Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. J. R. Bierich

VERGLEICH DER IN VITRO BIOCONVERSION VON PREGNENOLON ZWISCHEN RATTEN- UND MENSCHLICHEM HODENGEWEBE WÄHREND DER SEXUELLEN REIFUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Stefan Grumbach
aus Kraatz

1978

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. J. R. Bierich

VERGLEICH DER IN VITRO BIOCONVERSION VON PREGNENOLON ZWISCHEN RATTEN- UND MENSCHLICHEM HODENGEWEBE WÄHREND DER SEXUELLEN REIFUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Stefan Grumbach
aus Kraatz

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.-E. Hoffmeister
1. Berichterstatter: Professor Dr. D. Gupta
2. Berichterstatter: Professor Dr. A. E. Schindler

INHALTSVERZEICHNIS

A. Einleitung 1

B. Fragestellung 1o

C. Methode 11

I. Hodengewebe 11
II. Materialien 12
III. Inkubation 14
IV. Extraktion 15
V. Chromatografie 16
VI. Enzymaktivität 28

D. Ergebnisse

I. Rattenhoden 3o
II. Menschliche Hoden 47

E. Diskussion

I. Bioconversion im Rattenhoden
. in Abhängigkeit vom Alter 61
. nach künstlichem Kryptorchismus 64
. in prä- und postpubertär kryptorchen Tieren 86

II. Bioconversion im menschlichen Hoden
. in Abhängigkeit vom Alter 98
. bei Kryptorchismus 1oo

III. Vergleich der Bioconversion zwischen Ratten- und menschlichen Hoden 112

F. Zusammenfassung 123

G. Anhang 126

H. Literaturverzeichnis 127

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523707_0017

A. EINLEITUNG

Hodengewebe kann man unterteilen in interstitielles Gewebe - bestehend vor allem aus Leydigzellen - und in Hodenkanälchen mit Sertolizellen und Keimzellen. Das Interstitium macht etwa 6 %, die Hodenkanälchen ungefähr 9o % des gesamten Hodengewichts aus (12,46).

Die Anzahl der Leydigzellen schwankt im Laufe des Lebens erheblich; der fetale und Neugeborene Hoden enthält viele Leydigzellen (Einfluß des placentaren HCG), wie Bloch 1964 feststellte (6,8). Danach nimmt ihre Zahl ab, um mit Eintritt der Pubertät rasch anzusteigen. Die Interstitialzellen stellen den Hauptort der Androgenproduktion im Hoden dar (12, 45, 46). Sie enthalten alle Enzyme, die für die Bildung von Testosteron aus Pregnenolon benötigt werden (85). Hall 1966 und Castro et al. 1972 wiesen nach, daß die Leydigzellen unter Einfluß von LH (Luteinisierendes Hormon) die Hormonproduktion steigern (1o, 2o, 4o, 44, 45). Im fetalen und Neugeborenen Hoden sind die Hodenkanälchen solide Epithelstränge ohne Lumen, die vorwiegend aus Sertolizellen und einzelnen Stammzellen der Spermatogenese bestehen. Das Bild der Tubuli ändert sich erst wesentlich mit Beginn der Pubertät (8). Mehrere Autoren stellten fest, daß FSH (Follikel stimulierendes Hormon) vor allem in Sertolizellen nachweisbar ist und wichtige Funktion in der Induktion sowie Erhaltung der Spermatogenese erfüllt (1o, 12, 46).

Androgene sind für eine vollständige Spermatogenese unentbehrlich (12, 9o). Offen ist jedoch die Frage, ob die zur Spermatogenese benötigten Androgene aus dem Interstitium oder von den Sertolizellen selbst stammen, wie z. B. Christensen et al. vermuteten (12).

Die Biosynthese des Testosteron erfolgt aus Cholesterin - im Hoden zu 90 % endogener Natur - und dessen Metaboliten (18, 44, 62). Abbildung 1 zeigt Pregnenolon als wichtige Ausgangssubstanz der Androgensynthese (44, 46) und schematisch dargestellt die zwei Hauptsynthesewege des Testosteron. Je nach Lage der Doppelbindung am A-Ring des Steroids spricht man von "Delta 4-" oder "Delta 5-Weg" der Testosteronsynthese.

Der Δ4-Weg über Progesteron, 17-OH-Progesteron und Androstendion wurde erstmals 1956 von Slaunwhite und Samuels unter in vitro Bedingungen am Rattenhoden beschrieben und ist inzwischen mehrfach bestätigt worden (6, 21, 38, 68, 82, 88, 92). Aufmerksam auf den Δ5-Weg machten erstmals Neher und Wettstein 1960 sowie Kahnt et al. 1961 (54, 67). Von Pregnenolon entsteht über 17-OH-Pregnenolon, Dehydroepiandrosteron (DHA), Δ5-Androstendiol (21, 38, 53). Bei jedem dieser Syntheseschritte ist ein Übergang von Δ5- auf entsprechende Δ4-Produkte möglich (6, 42, 53, 67, 87, 92, 98).

Die für die Testosteronbiosynthese benötigten Enzyme und Cofaktoren sind in Abbildung 1 eingezeichnet. Die Abspaltung der Cholesterol-Seitenkette und die Acetylierung erfolgt durch mitochondrale Enzyme: Cholesterin-20α-Hydroxylase = 1, Cholesterin-22β-Hydroxylase = 2, Cholesterin-C20,22-Lyase = 3 (18, 95). Mikrosomale Enzyme vor allem der Interstitialzellen (Δ5-Δ4-Steroidisomerase = 4, 3β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase = 5, Steroid-17α-Hydroxylase = 6, C17,20-Lyase = 7 und 17βHydroxy-Steroiddehydrogenase = 8) metabolisieren Pregnenolon oder Progesteron zu Testosteron (59, 63, 81). Die in Abbildung 1 eingezeichneten Cofaktoren: a = NADPH + H^+ + O_2 ; b = NAD(P)$^+$; c = NAD(P) + H^+ beeinflussen ebenfalls die Synthese.

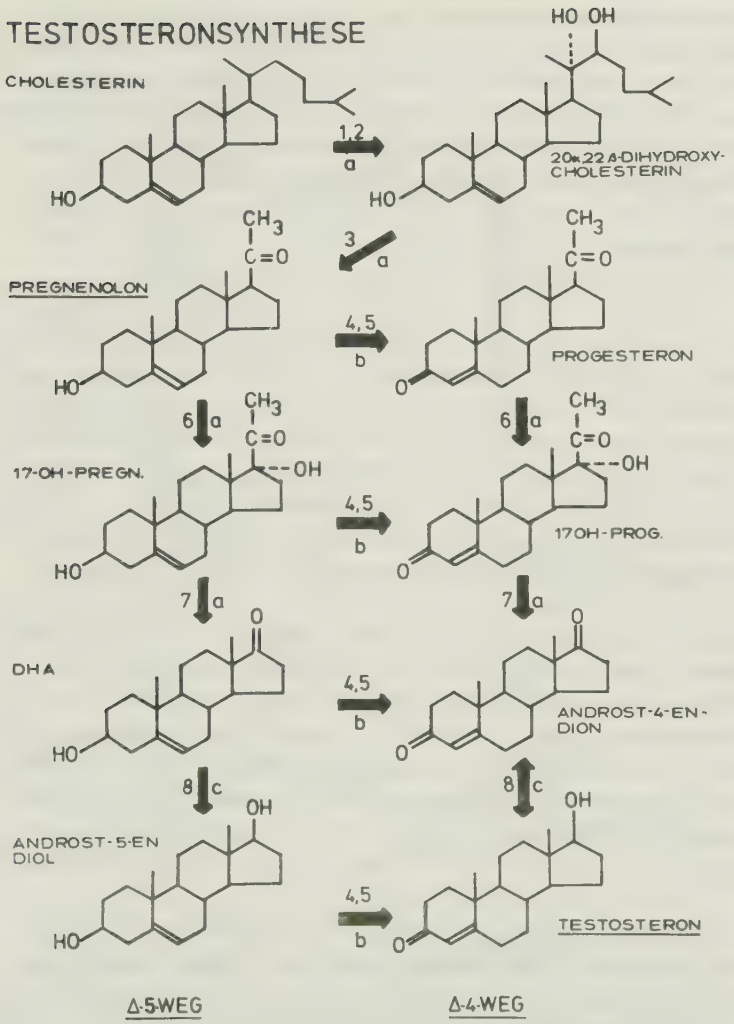


Abbildung 1: Testosteronsynthese (Erläuterungen siehe Text)

Hodengewebe ist ebenfalls zur Metabolisierung von Testosteron befähigt (6o, 91, 94). Abbildung 2 zeigt zwei Metabolisierungswege des Testosteron, die ebenso wie der Δ4- und Δ5-Weg auf jeder Konversionsstufe ineinander übergehen können. Es entstehen 5α-reduzierte Substanzen mit gesättigtem Ringsystem und Keto- oder Hydroxylgruppen an Position 3 bzw. Position 17 des Steroidgerüsts (23). Je nach Beschaffenheit am C17-Atom spricht man vereinfacht vom "17-Keto-" oder vom "17β-Hydroxylweg" (3, 8o).

Die Testosteronmetaboliten, die selbst potente Androgene sind (18, 36, 46), können sowohl im Interstitium als auch in den Tubuli gebildet werden (77). Das interstitielle Gewebe synthetisiert vermehrt Androstendion, die Tubuli vor allem Dihydrotestosteron (DHT), Androstandiol sowie Androsteron (25, 26, 76-78, 97). In größerem Ausmaß wird Testosteron außerdem in Zielorganen wie Prostata, Vesikula seminalis oder in der Haut metabolisiert (7, 79, 94).

Ob 17-Keto- oder 17β-Hydroxylweg dominiert, ist noch weitgehend unklar. Dorfman et al. 1963 sowie Shanies et al. 1972 zeigten, daß in vitro beim normalen Mann der 17β-Hydroxylweg überwiegt (18, 8o). Gleichzeitig stellte Shanies et al. fest, daß sich das Verhältnis 17β-Hydroxylweg zu 17-Ketoweg mit zunehmender Reife verringert. Tierexperimentelle Arbeiten haben dies bestätigt (16, 38, 5o, 66, 8o, 91).

Die Enzyme zur Metabolisierung des Testosteron wurden ebenfalls im Hoden nachgewiesen. Die 5α-Reductase konnte in Mikrosomen, die 3β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase (3β-HSD) im Cytoplasma nachgewiesen werden (3, 7o, 79).

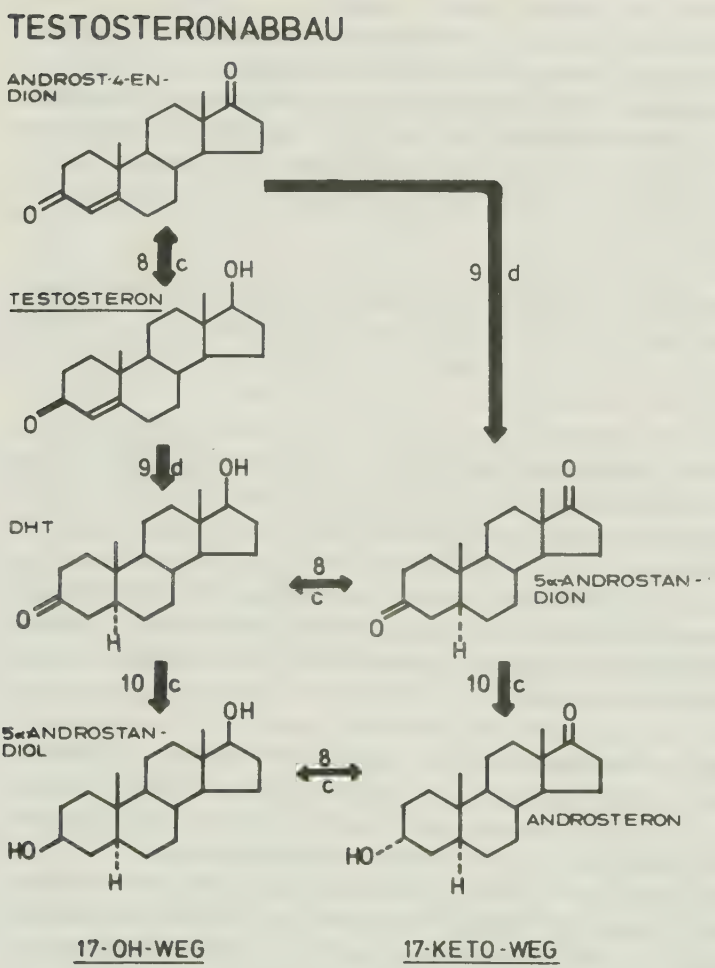


Abb. 2: Testosteronmetabolisierung, Erläuterungen siehe Text; 8 = 17β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase; 9 = Steroid-5α-Reductase, 1o = 3α-Hydroxy-Steroiddehydrogenase; c = NAD(P)H + H^+, d = H_2

Bereits der fetale Hoden verschiedener Spezies ist sekretorisch aktiv (5, 6). In jüngster Zeit konnten Siitery und Wilson nachweisen, daß in der fetalen menschlichen Hodenanlage zur Zeit der Geschlechtsdifferenzierung hauptsächlich Testosteron gebildet wird und DHT das Wachstum der Geschlechtsorgane zu dieser Zeit am stärksten induziert (86). Im Tierexperiment sind ähnliche Ergebnisse bekannt (68).

Außer den Gonaden sind zu diesem Zeitpunkt bereits höhere Zentren funktionstüchtig. Hypophysektomierte fetale Kaninchen zeigten gleiche Merkmale wie nach fetaler Kastration: die Tiere entwickelten sich ausschließlich in weiblicher Richtung weiter (Jost 1953). Gonadotropine heben diesen Effekt wieder auf (28). Heute wird allgemein angenommen, daß schon lange vor Einsetzen der Pubertät der Reglerkreis Hypothalamus-Hypophyse-Gonaden funktionstüchtig ist. Veränderungen in der Pubertät, d. h. Entwicklung sekundärer Geschlechtsmerkmale sowie Erlangung der Fortpflanzungsfähigkeit sind auf Veränderung dieser Reglerachse zurückzuführen. Allerdings sind viele Punkte dieses Reglermechanismus noch ungeklärt.

Mit zunehmendem Alter ändert sich die Serumkonzentration der Gonadotropine (2o, 29, 35, 4o). Die LH-Werte steigen um das zehnte Lebensjahr an und bleiben ungefähr bis zum 13. Jahr gleich. Mit 12 Jahren setzt gleichzeitig ein deutlicher FSH-Anstieg ein. Zwischen dem 13. und 15. Lebensjahr nehmen die FSH- und LH-Werte gleichmäßig zu, danach steigt die LH-Konzentration weiter an während die FSH-Konzentration abnimmt. Auffallend ist die Korrelation zwischen Gonadotropinen und Hodenwachstum in diesem Zeitraum.

Parallel zu den morphologischen Veränderungen des Hodens und dem Anstieg der Gonadotropinwerte verändert sich auch die sekretorische Aktivität des pubertären Hoden. Tanner et al. 1968 und Gupta et al. 1969, 197o zeigten in Langzeitstudien an Kindern zwischen dem 3. und 15. Lebensjahr, daß die Androgenausscheidung im Urin mit dem Alter zunimmt und daß erwachsene Männer das 5ofache an Testosteron ausscheiden verglichen mit präpubertären Knaben (27, 31, 32, 93). Tierexperimentelle Arbeiten wiesen übereinstimmende Ergebnisse auf (23, 24, 48, 58, 66, 89). Auch für Testosteron-Plasmawerte fand man identische Veränderungen (33, 36, 39, 58, 77).

Testosteronmetabolite wie DHT und Androstandiol waren zu Beginn der Pubertät erhöht, sowohl beim Menschen als auch bei anderen Spezies (36, 37, 89). Man führt diese vermehrte Metabolisierung auf gesteigerte Aktivität der 5α-Reductase zurück (16, 66, 9o). Nach anderer Auffassung besteht eine veränderte Enzymaktivität sowohl in der Biosynthese als auch im Metabolismus des Testosteron, die für die veränderten Steroidmuster verantwortlich ist (48, 5o). Übereinstimmend bei Tieren und beim Menschen war die Feststellung, daß der unreife Hoden vermehrt Androstendion und der reife Hoden vermehrt Testosteron und 5α-reduzierte Substanzen bildet (37, 71, 89, 9o).

Besondere Bedeutung im Zusammenhang mit der sexuellen Reifung hat der Kryptorchismus, d. h. eine Störung, bei der der Deszensus testis unterbleibt. Mit großen individuellen Schwankungen kommen die Hoden bei normalen Knaben zur Zeit der Geburt im Scrotum an (9, 52, 56). Bei Ratten erfolgt der Deszensus erst nach dem 2o. Lebenstag. Mit 3o Tagen zeigen die Tubuli seminiferi des Rattenhodens bereits beginnende Spermatogenese (17). Im Gegensatz zum menschlichen Hoden ist eine wechselnde Hodenlage bei Ratten normal.

Im Zusammenhang mit der anormalen Hodenlage steht eine hochgradige Degeneration der Tubuli auf 6o-7o % gegenüber normal 9o % des Hodengewichts. Zerstörung der Keimzellen, starke Gewichtsabnahme des Hodens und der akzessorischen Geschlechtsdrüsen sowie Veränderungen der Androgensekretion sind deutliche Folgen des Kryptorchismus (4, 9, 13, 14, 15, 52, 55, 61). Die Leydigzellen sind nicht so temperaturempfindlich wie die Keimzellen, obwohl Clegg 1961 bei Ratten eine Zunahme der Interstitialzellen 21 Tage nach künstlichem Kryptorchismus fand. Die Vermehrung der Leydigzellen war offensichtlich die Reaktion auf erhöhte Gonadotropinspiegel der kryptorchen Tiere (15).

Hormonelle Veränderungen bei Kryptorchismus manifestieren sich in einer Abnahme der Androgensekretion (13, 14, 49, 61, 71), einer Zunahme an Zwischenprodukten der Androgensynthese wie 17-OH-Pregnenolon und Androstendion (36, 49, 71) und in einer erhöhten Gonadotropinausschüttung (14, 15, 19, 35, 39, 73). Je nach Dauer des Kryptorchismus und Alter der Tiere schwanken die Ergebnisse einzelner Forscher erheblich (41, 71, 72). Ebenso bestehen große Unterschiede zwischen klinischem und künstlichem Kryptorchismus. Künstlich kryptorche Hoden zeigen nach länger andauerndem Kryptorchismus Regeneration des Keimepithels (15, 61), während eine irreparable Schädigung des Keimepithels nach der Pubertät ein Merkmal des klinischen Kryptorchismus ist (11).

Clegg beschrieb 196o die Folgen eines artifiziellen Kryptorchismus an 63 bis 72 Tage alten Albino-Ratten: initiale Abnahme der Androgenproduktion, Zerstörung des Keimepithels, Zunahme der Leydigzellen und Erhöhung der Gonadotropine im Plasma (13-15). Zu gleichen Ergebnissen kamen andere Gruppen (36, 39, 55, 61, 71). Jedoch sind auch hier abweichende Resultate bekannt (1).

Widersprüchlich sind auch die gemessenen Enzymveränderungen. Kormano et al. 1964 fand die 3β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase bei 4-32 Tage kryptorchen Tieren vermindert (55), Inano und Tamaoki 1968 neben der um 4o % verminderten 3β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase eine Erhöhung sämtlicher Enzyme, die für die Testosteronsynthese benötigt werden (49). Im Gegensatz dazu stehen Arbeiten von Bedrak et al. 1973, die eine vermehrte Testosteronsynthese über DHA und Androstendion bei kryptorchen Ratten fanden. Hitzeexponierte Rattenhoden hatten allgemein gesteigerte Enzymaktivität, jedoch eine verminderte Aktivität der 17β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase (4).

B. FRAGESTELLUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bioconversion von Pregnenolon zu Testosteron und dessen Metabolisierung durch Hodengewebe prä- und postpubertär kryptorcher Ratten in vitro untersucht. Gleichzeitig wurde der Einfluß der Kryptorchismusdauer auf die Bioconversion geprüft.

In einer ähnlichen Studie an menschlichem Hodengewebe bilateral kryptorcher sowie normaler Knaben zwischen einem Tag und fünfzehn Jahren wurden die Auswirkungen des Hodenhochstandes auf die Metabolisierung von Pregnenolon in vitro untersucht.

Abschließend wurde in einem Vergleich der Bioconversion zwischen künstlich kryptorchen Rattenhoden und klinisch kryptorchen menschlichen Hoden erörtert, inwieweit Ergebnisse eines artifiziell erzeugten Hodenhochstandes auf den Maldeszensus testis beim Menschen übertragbar sind.

C. METHODE

I. Hodengewebe

Zur Untersuchung künstlich kryptorchen Hodengewebes wurden männliche Wistar-Ratten aus der Zucht von Ivanovac (Kißlegg, Allgäu) verwendet. Eine präpubertäre (16 Tage) und eine postpubertäre (28 Tage) Gruppe von Tieren wurden am selben Tag operiert. Durch intraperitoneale Injektion von Nembutal R (Deutsche Abbott GmbH) wurden die Ratten zuvor betäubt. Die Dosierung des Nembutals richtete sich nach dem Alter der Tiere und betrug durchschnittlich 3o mg/kg Körpergewicht. Anschließend wurden die Hoden in die Bauchhöhle geschoben und der Kanalis inguinalis durch eine von Peniswurzel bis Anus verlaufende Längsnaht verschlossen. So wurde ein artifizieller Kryptorchismus erzeugt.

Um den Effekt der Kryptorchismusdauer auf prä- und postpubertäre Tiere zu untersuchen, wurden von jeder Gruppe am 4., 8., 12., 19., 29., 4o. und 54. Tag nach Operation 5-12 Tieren das Hodengewebe entnommen.

Die zehn operativen Hoden-Probeexzisionen der kryptorchen Knaben stammten aus der Kinderchirurgischen Abteilung der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen (Prof. Dr. A. Flach). Alle Patienten waren mindesten 6 Monate zuvor erfolglos einer Therapie mit HCG unterzogen worden. Das Gewicht der entnommenen Proben schwankte zwischen 1,4 und 75,9 mg.

Normales Hodengewebe stammte von verstorbenen Kindern, spätestens zwei Stunden nach Exitus entnommen. Alle Proben wurden nach Entnahme tiefgefroren und blieben bis zur Inkubation in diesem Zustand.

II. Materialien

a. Substrat

H3-Pregnenolon und C14-Progesteron in Benzol gelöst, stammten vom Radiochemical Centre, Amersham/England. Die Reinheit der Substanzen war durch zweifache Dünnschichtchromatografie und eine papierchromatografische Auftrennung gewährleistet. Nach Verdampfen des Benzols und Lösen in 2o ml Äthanol wurden beide Substrate bis zur Verwendung kühl gelagert.

b. Standards

Die als Referenzsteroide benutzten Hormone stammten von den Firmen E. Merck AG, Darmstadt, British Drughouses Ltd., Pook/England und L. Light & Co. Ltd., Colnbrock/England. Die Standards wurden in einer Konzentration von 1 mg/ml Äthanol gelöst und ebenfalls kühl gelagert.

c. Chemikalien

Alle für die Inkubation verwendeten Cofaktoren waren Produkte der Firma Boehringer Mannheim. Die Lösungsmittel stammten von E. Merck AG, Darmstadt und hatten den Reinheitsgrad "zur Analyse". Die Chemikalien zur Herstellung der Szintillationsflüssigkeit kamen von der Firma Packard. Zur Papierchromatografie wurde 2 M Chromatografiepapier der Firma Whatman verwendet. Nembutal R (Pentobarbital, Deutsche Abbott GmbH) diente zur Betäubung der Versuchstiere.

d. Inkubationsmedium

Das Inkubationsmedium wurde jeweils kurzfristig vor jeder Inkubation angesetzt und bestand aus:

1,o ml steriler Hankscher Lösung
175 µl NADP, Di-Natriumsalz (3,257 µmol/ml)
175 µl G-6-P, Di-Natriumsalz (36,17 µmol/ml)
125 µl $NaHCO_3$, 1,3 %ig.

NADP, Glucose-6-Phosphat (G-6-P) und $NaHCO_3$ wurden mit Aqua dest. angesetzt. Sterile Hanksche Lösung wurde in der Universitäts-Apotheke hergestellt. Es handelt sich um eine isotone, wässrige Lösung, die NaCl, KCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$, $MgSO_4$, Na_2SO_4, Na_2HPO_4, Glucose und $NaHCO_3$ enthält.

Der pH-Wert des Inkubationsmediums schwankte zwischen 7,6 und 7,7. Mit einer o,1 n HCl wurde das Inkubationsmedium auf pH 7,4 eingestellt.

e. Messgeräte

Zur pH-Messung wurde ein pH-Meter E 3oo der Firma Metrohm (Herisau, Schweiz) benutzt.

Die Messung der Radioaktivität der Dünnschichtplatten erfolgte mittels eines Dünnschichtscanners LB 2723 der Firma Berthold, Wildbad.

Die Papierstreifen der Papierchromatografie wurden auf einem Papierstreifen-Scanner der Firma Berthold auf Verteilung der Radioaktivität untersucht.

Die Bestimmung der Aktivität einzelner chromatografisch getrennter Bereiche erfolgte in einem Tri-Carb-Szintillationszähler 3oo3 der Firma Packard.

III. Inkubation

Je nach Hodengewicht, wurden 5-12 der prä- und postpubertär kryptorchen Tiere nach festgelegter Kryptorchismusdauer dekapitiert. Die Hoden wurden sofort entnommen, von Epididymidis und Tunica albuginea sowie größeren Blutgefäßen befreit und bis zur Inkubation auf Trockeneis gelagert. Gleichzeitig mit den Hoden wurden Blut und Hypophyse der Tiere für LH- und FSH-Bestimmungen gesammelt (19).

Jeweils acht Hoden der präpubertären und acht Hoden der postpubertären Tiergruppe wurden gewogen. In Scheibchen geschnittenes Hodengewebe der Tiere jeder Gruppe wurde vermischt und davon jeweils 1 g in ein Inkubationsgefäß abgewogen. Neben 1 g Hodengewebe wurde dem Ansatz 1,5 ml Inkubationsmedium sowie 1oo µl H3-Pregnenolon (12 Mill. Cts./1o Min.) als Substrat hinzugefügt. Die Zeit zwischen Hodenentnahme und Inkubation wurde möglichst kurz gehalten.

Die tiefgefrorenen Gewebsproben menschlicher Hoden wurden ebenfalls in Scheibchen geschnitten, gewogen und in ein Inkubationsgefäß gegeben. Neben 1,5 ml Inkubationsmedium wurden 5o µl H3-Pregnenolon (6 Mill. Cts./1o Min.) und 5o µl C14-Progesteron (12 Mill. Cts./1o Min.) hinzugefügt.

Unter ständigem Schütteln und Carbogenzufuhr wurden die Proben im Wasserbad eines Dubnoff-Shakers bei 37° C inkubiert. Nach genau zweistündiger Inkubation wurden die Proben zur weiteren Aufarbeitung entnommen.

IV. Extraktion

Jede Gewebsprobe wurde nach Inkubation sofort in einem Braun-Melsungen Gefäß homogenisiert und in Schliff-Glasröhrchen überführt. Zur Hemmung einer weiteren Substratumsetzung wurden die Proben mit je 1o ml Essigsäureäthylester versetzt und kräftig geschüttelt.

Unter Zusatz von je 2oo ul der zwölf Referenzsteroide wurden die Proben 1o Minuten bei 175 U/Min. geschüttelt, zentrifugiert und der Überstand in neue Gefäße überführt. Der Rückstand wurde mit 5 ml warmem Essigsäureäthylester nachgewaschen, erneut 1o Minuten geschüttelt, zentrifugiert. Nach Vereinigung beider Überstände wurde das Essigsäureäthylester verdampft.

Zur Entfernung vorhandener Lipide wurde der eingedampfte Rückstand in 1o ml 7o %igem Methanol gelöst, 1o ml n-Hexan hinzugefügt, 1o Minuten bei 2oo U/Min. geschüttelt und kurz zentrifugiert. Mit einer Punktionsnadel wurde die obere Hexanphase abgesaugt. Die verbliebenen Fette wurden zum Ausfrieren über Nacht in die Tiefkühltruhe gestellt. Am nächsten Morgen erfolgte in der Tiefkühltruhe die Filtration der ausgefrorenen Fette. Die Filtration dauerte 3-12 Stunden. Nach Eindampfen des Filtrats wurden die Proben mit je 1o ml Chloroform versetzt.

Zur Neutralisation und zum Entfernen der Östrogene wurde anschließend mit je o,5 ml 1 n NaOH und zweimal mit je o,5 ml Aqua dest. geschüttelt, zentrifugiert und jeweils die obere Phase mit einer Punktionsnadel abgesaugt. Nach pH-Kontrolle wurde das Chloroform der Proben eingedampft. Erst kurz vor der chromatografischen Auftrennung wurden je 1oo ul Essigsäureäthylester hinzugefügt.

V. Chromatografie

Aufgrund der Substratconversion durch Enzyme des Hodengewebes wurde eine größere Anzahl von radioaktiv markierten Metaboliten gebildet. Zwölf der gebildeten Steroide wurden aus jedem Inkubationsansatz mit Hilfe chromatografischer Trennungsmethoden gewonnen und ihr prozentueller Anteil an der Bioconversion gemessen. In einer ersten Auftrennung auf Kieselgel G (Typ 6o) beschichteten Glasplatten konnten drei der zwölf Steroide eindeutig getrennt werden (Abb. 3). Nicht getrennte Hormone wurden entweder erneut auf Dünnschichtplatten nach Acetylierung oder mit Hilfe der Papierchromatografie getrennt (Abb.4-6).

a. Dünnschichtchromatografie

Die erste chromatografische Auftrennung der extrahierten Steroide erfolgt auf Kieselgel beschichteten Glasplatten (4o x 2o cm). Der Glastank, in dem die Trennung erfolgte, wurde vor jedem Lauf frisch präpariert. Um eine möglichst gleichmäßige Äquilibrierung im Tankinneren zu erreichen, war der Tank allseitig mit 3 M Whatman Chromatografiepapier ausgekleidet. Als Laufmittel diente eine Mischung aus Diäthyläther : Chloroform im Verhältnis 1 : 9.

Plattenherstellung: 75 g Kieselgel G Typ 6o nach Stahl wurden in 15o ml Aqua dest. gelöst, gut geschüttelt, danach mit einer Shandonschiene und dazugehörigem Schlitten in einer Schichtdicke von o,5 mm auf die Glasplatten aufgetragen. Anschließend wurden die Platten an der Luft getrocknet, für einige Stunden im Trockenschrank bei 8o° C nachgetrocknet und bis zum Trennungslauf in einem staubfreien Plattenschrank mit Blaugel aufbewahrt. Die Platten wurden jeweils einen Tag vor dem gewünschten Lauf gegossen.

Auftragen der Standards und der Proben: Auf die beschichteten Glasplatten wurden Bahnen von 1,5 cm Breite bei einem Zwischenraum von o,5 cm geritzt. Auf jeder Bahn wurde ein Referenzsteroid aufgetragen. Die Platten für die Gewebsproben hatten eine Bahnbreite von 3 cm bei einem Zwischenraum von 1 cm.

Zuerst wurden die Standards mit einer geeichten Pipette (1o µl) punktförmig mit Hilfe einer Plastikschiene der Firma Shandon aufgetragen. Die Proben wurden nun mit Pasteurpipetten entlang der Startlinie auf den 3 cm breiten Bahnen aufgetragen. Dazu wurden die Proben in je 1oo µl Essigsäureäthylester gelöst, entlang der Startlinie auf die Platte getropft und gleichzeitig geföhnt. Dieser Vorgang wurde zweimal mit je 1oo µl Essigsäureäthylester wiederholt.

Nachdem alle Proben und die dazugehörigen Standards aufgetragen waren, erfolgte der Trennungslauf in äquilibrierten Glastank. Die Laufzeit betrug durchschnittlich 5 Stunden. Vor Entnahme der Platten wurden die Laufstrecken der Lösungsmittelfront auf jeder Bahn markiert.

Färbung der Standards, Rf-Werte: Zur Sichtbarmachung der Standards wurde die Platte mit den Referenzsteroiden nach Chromatografie mit einer 1o %igen Phosphormolybdänsäure-Isopropanol-Lösung besprüht und anschließend für 3o Minuten im Trockenschrank bei 8o° C erhitzt. Die Standards wurden als dunkelblaue Flecke sichtbar. Mittelpunkt und Streuung jedes der zwölf Standardhormone wurden auf der Platte markiert und die Laufstrecken abgemessen. Aus den Laufstrecken des Fließmittels und denen der Standards konnten die Rf-Werte für die zwölf gesuchten Steroide ermittelt werden. Tabelle 1 zeigt die Rf-Werte der zwölf Standardhormone sowie deren Abweichungen bei den einzelnen chromatografischen Trennungen.

Steroide	Rf	s	vk
Pregnenolon	o.297	o.o39	13.111
17-OH-Pregnen.	o.136	o.o29	21.145
D H A	o.262	o.o48	18.282
Androstendiol	o.128	o.o29	22.866
Progesteron	o.457	o.o57	12.452
17-OH-Prog.	o.188	o.o35	18.765
Androstendion	o.397	o.o59	14.832
Testosteron	o.184	o.o33	17.736
Androstandion	o.5o1	o.o54	1o.72o
Androsteron	o.261	o.o36	13.923
D H T	o.277	o.o49	17.772
Androstandiol	o.129	o.o31	24.235

Tabelle 1: Rf-Werte der 12 Steroide nach Dünnschichtchromatografie mit einem Laufmedium von Diäthyläther : Chloroform im Verhältnis 1:9; s = Standardabweichung, vk = Variationskoeffizient

Steroide	Rf	s	vk
Androstandiol	o.587	o.o53	8.96o
Androstendiol	o.575	o.o39	6.813
17-OH-Pregnen.	o.344	o.o2o	5.787
17-OH-Prog.	o.113	o.oo9	8.414
Testosteron	o.32o	o.o3o	9.519

Tabelle 2: Rf-Werte der Steroide nach Acetylierung und Dünnschichtchromatografie mit einem Laufmittel von Benzol : Essigsäureäthylester im Verhältnis 4:1; s = Standardabweichung, vk = Variationskoeffizient

Scannen der Proben: Um die Lage der radioaktiv markierten Hormone auf der Dünnschichtplatte zu bestimmen, wurde diese gescannt. Die Aufzeichnung der Radioaktivität ergab für jede Bahn eine typische Kurve mit sieben Peaks. Nach Übertragung der Rf-Werte der Standards auf die Scannerkurve war eine Zuordnung der einzelnen Hormone zu den sieben Peaks möglich (Abb. 3):

Peak 1 war mit keinem der zwölf Standards identisch und wurde nicht näher untersucht. Für die übrigen Peaks war eine gute Zuordnung möglich.

Peak 2 enthielt 17-OH-Pregnenolon, Δ5-Androstendiol und Androstandiol; in

Peak 3 fanden sich 17-OH-Progesteron und Testosteron,

Peak 4 enthielt Pregnenolon, DHT, DHA und Androsteron.

Peak 5, 6 und 7 wiesen je ein Hormon auf, und zwar jeweils Androstendion, Progesteron und Androstandion.

Nachdem in Peak 5, 6 und 7 jeweils nur ein Steroid nachgewiesen wurde, mußten diese Bereiche nicht weiter aufgetrennt werden. Für Peak 2 mit Androstandiol, Δ5-Androstendiol und 17-OH-Pregnenolon und für Peak 3 mit 17-OH-Progesteron und Testosteron erwies sich die Acetylierung mit anschließender Dünnschichtchromatografie als gute Trennungsmethode (Abb. 4).

Peak 4 mit Pregnenolon, DHT, DHA und Androsteron wurden mit Hilfe der absteigenden Papierchromatografie weiter aufgetrennt (Abb. 5, Abb. 6).

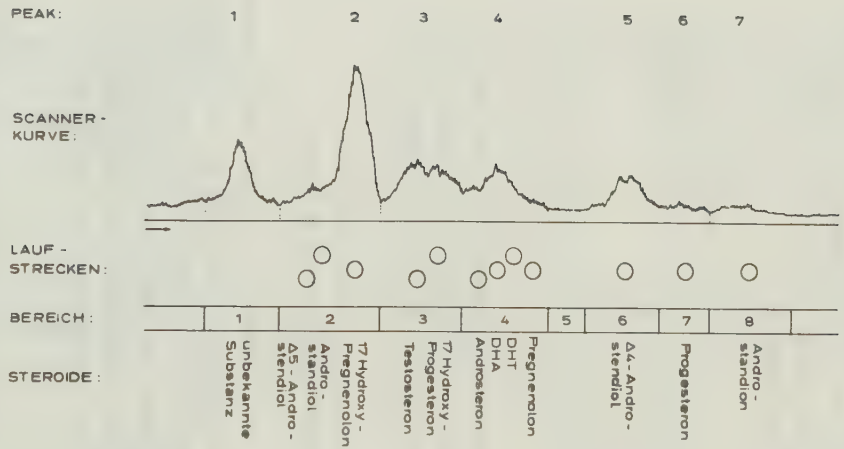


Abbildung 3: Dünnschichtchromatografische Auftrennung der Pregnenolonmetabolite mit Diäthyläther:Chloroform (1:9) als Laufmittel. Die Scannerkurve zeigt die Verteilung der radioaktiv markierten Metabolite auf der Dünnschichtplatte. Mit Hilfe der Laufstrecken nicht markierter Steroide wurden die Hormone einzelner Peaks der Kurve identifiziert. Steroide der Peaks 2, 3 und 4 mußten durch erneute Chromatografie getrennt werden.

b. Acetatherstellung, Trennungslauf

Zur Auftrennung von Peak 2 und Peak 3 der ersten Dünnschichtchromatografie wurden die verbliebenen 45o µl der eluierten und gezählten Bereiche eingedampft, ebenso je 2o µl der entsprechenden Standards. Proben und Standards wurden dann mit je 1oo µl Pyridin und 1oo µl Essigsäureäthylester versehen und für 12 - 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach wurden Proben und Standards erneut eingedampft.

Trennungslauf: Die Trennung der Acetate erfolgte auf Kieselgel G beschichteten Glasplatten (2o x 2o cm). Die Bahnen für die Standards waren 1,5 cm breit, die der Proben 2 cm breit mit einem Zwischenraum von o,5 cm. Jede der acetylierten Proben wurde dreimal hintereinander in je 1oo µl Essigsäureäthylester : Methanol (2:1) gelöst und unter Föhnen aufgetragen.

Als Laufmittel für die Dünnschichtchromatografie in einem kleinen Glastank diente ein System aus Benzol : Essigsäureäthylester im Verhältnis 4 : 1. Der Tank wurde jeweils einen Tag vor dem geplanten Lauf vorbereitet. Die Laufdauer betrug durchschnittlich 5o Minuten bei einer konstanten Raumtemperatur von 27° C.

Sichtbarmachen der Standards und Berechnung der Rf-Werte erfolgte wie zuvor beschrieben. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die Rf-Werte der zweiten Dünnschichtchromatografie nach Acetylierung.

Identifizierung der Peaks, Einteilung der Bereiche, Eluieren und Zählen der radioaktiven Substanzen erfolgte wie beschrieben. Abbildung 4 zeigt die Scannerkurven für Peak 2 und 3 sowie die Laufstrecken der entsprechenden acetylierten Standards.

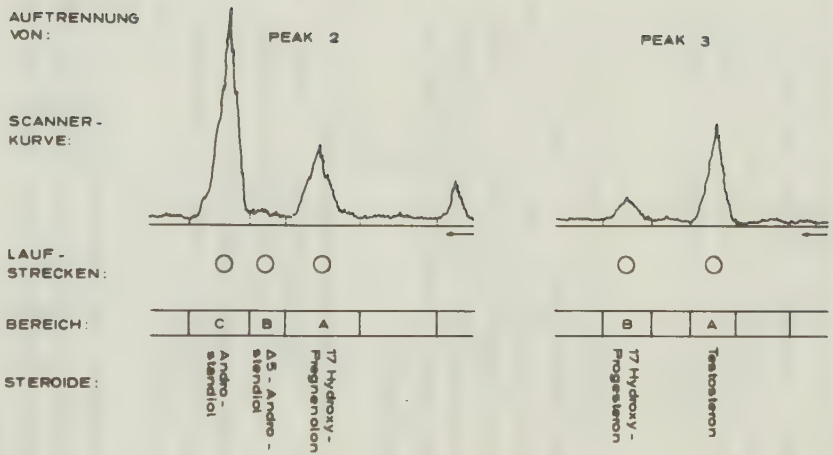


Abbildung 4: Dünnschichtchromatografie der Peaks 2 und 3 der ersten chromatografischen Trennung (Abb. 3) nach Acetylierung und Trennung mit einem Laufmittel von Benzol:Essigsäureäthylester (4:1). Die Zuordnung einzelner Steroide zu den Peaks der Scannerkurven erfolgte durch Vergleich mit den Laufstrecken entsprechender Standards.

c. Papierchromatografie

Peak 4 der ersten Dünnschichttrennung (Abb. 3) enthielt Pregnenolon, DHA, DHT und Androsteron. Als geeignete Trennungsmethode für diese Steroide erwies sich die absteigende Papierchromatografie in einem Bush A System.

Trennungslauf: 2 M Whatman Chromatografiepapier wurde in 1,5 cm breite Bahnen geschnitten. Der Zwischenraum zweier Bahnen betrug o,5 cm. Der Chromatografietank enthielt eine stationäre und eine mobile Phase bestehend aus Petroleumbenzin : Methanol : Aqua dest. im Verhältnis von 5 : 4 : 1.

Zunächst wurden die restlichen 45o µl Äthanol des bereits gezählten Peak 4 verdampft. Dann wurde die Probe dreimal in je 1oo µl Essigsäureäthylester gelöst und unter Föhnen 11 cm von Papierbeginn mit einer Pasteurpipette aufgetragen. Ebenso wurde mit den vier Standards dieses Bereichs verfahren. Jeweils drei Papierstreifen mit je drei Bahnen wurden gleichzeitig nebeneinander in den Tank gehängt. Nach Äquilibrieren des Tanks und Durchhängen der Papierstreifen (3 Stunden) wurde durch Zugabe von 4o ml der mobilen Phase der Trennungslauf begonnen. Die Laufzeit für ein Chromatogramm betrug genau 9 Stunden bei einer konstanten Raumtemperatur von 27° C.

Scannen, Zählen: Nach 9 Stunden Laufzeit wurden die Streifen zum Trocknen bei Zimmertemperatur aufgehängt. Die Papierstreifen mit den Referenzsteroiden wurden danach leicht mit 1o %iger Phosphormolybdänsäure-Isopropanol-Lösung eingesprüht und zum Sichtbarmachen der Standards kurz in den Trockenschrank gelegt. Der Papierstreifen mit dem aufgetrennten Peak 4 wurde auf einem Papierstreifenscanner gescannt. Durch Vergleich mit den Laufstrecken der angefärbten Standards war eine Zuordnung der einzelnen Peaks zu je einem Standard möglich (Abb. 5).

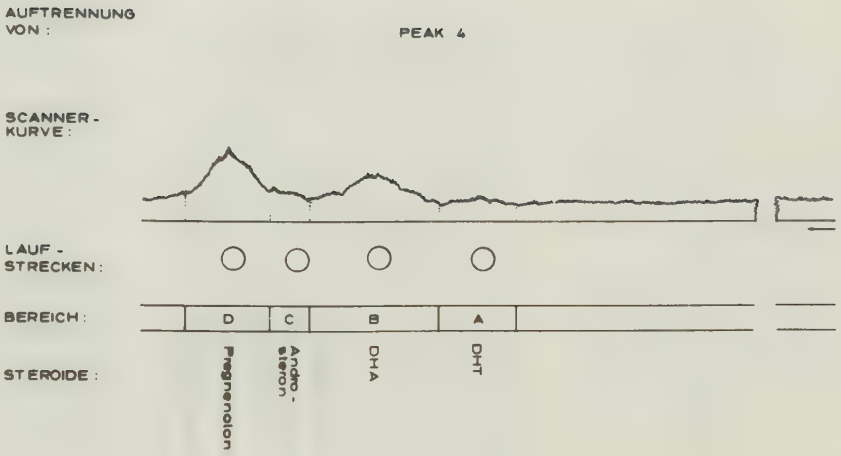


Abbildung 5: Papierchromatografie des Peak 4 der ersten chromatografischen Auftrennung (Abb. 3) in einem Bush A System bestehend aus Petroleumbenzin:Methanol:Aqua dest. (5:4:1) bei 27° C und einer Laufzeit von 9 Stunden. Die Laufstrecken der Standards ermöglicht eine Zuordnung einzelner Scannerpeaks zu dem entsprechenden Steroid.

In Tabelle 3 sind die Rf - Werte der Standards bei 9-stündigem Lauf in einem Bush A System bei 27° C wiedergegeben.

Nachdem der gescannte Streifen in entsprechende Bereiche aufgeteilt war (Abb. 5) erfolgte das Eluieren der getrennten Steroide. Jeder Bereich der Papierstreifen wurde dazu in kleine Stücke geschnitten und für 24 Stunden in je 5 ml Äthanol eluiert. Nach Verdampfen des Äthanols wurde das Eluat jedes Bereichs in 500 µl Äthanol gelöst. Ein Zehntel davon wurde zur Bestimmung der Radioaktivität abpipettiert und wie beschrieben im Szintillationszähler gezählt.

Bei einigen Trennungsläufen konnte Pregnenolon nicht zufriedenstellend von Androsteron getrennt werden. Die betreffenden Bereiche des Papierstreifens, in denen Pregnenolon und Androsteron überlappten wurden nach Eluieren und Zählen eingedampft und nach Acetylierung mit Hilfe einer zweiten Papierchromatografie in einem Bush AO System getrennt (Abb. 6).

Trennungslauf: Das Laufmittel des Bush AO Systems bestand aus Petroleumbenzin : Methanol im Verhältnis 1 : 1. Nach 12-stündiger Äquilibrierung und Durchhängen der Papierstreifen im Glastank betrug die Laufzeit der Chromatografie 4 Stunden bei einer konstanten Raumtemperatur von 4° C. Die weiteren Arbeitsschritte entsprachen denen der ersten Papierchromatografie.

In Tabelle 4 sind die durchschnittlichen Rf - Werte von Pregnenolon und Androsteron nach Acetylierung in einem Bush AO System bei 4-stündigem Lauf und einer gleichmäßigen Temperatur von 4° C wiedergegeben.

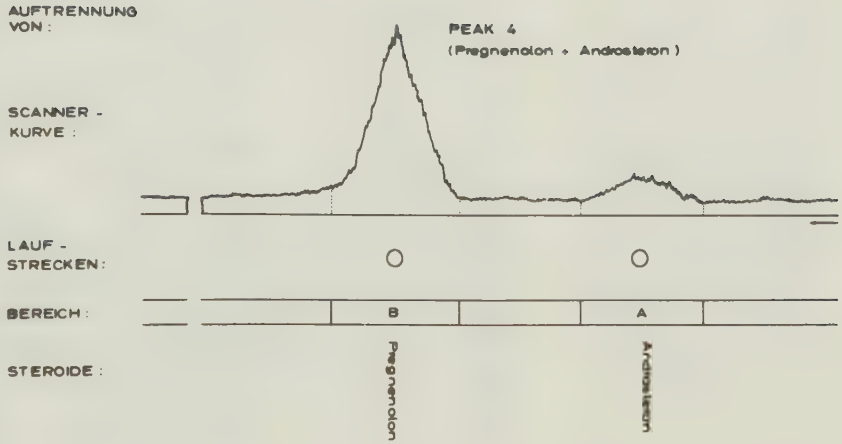


Abbildung 6: Papierchromatografische Auftrennung von Pregnenolon und Androsteron nach Acetylierung in einem Bush A0 System (Petroleumbenzin: Methanol 1:1) bei 4° C und einer Laufzeit von 4 Stunden. Durch entsprechende Standards erfolgte die Identifizierung beider Scannerpeaks.

Steroide	Rf	s	vk
Pregnenolon	o.648	o.o27	4.176
D H A	o.367	o.oo9	2.346
Androsteron	o.566	o.o12	2.o44
DHT	o.46o	o.o16	3.583

Tabelle 3: Rf-Werte der papierchromatografisch getrennten Steroide in einem Bush A System, Laufmittel Petroleumbenzin : Methanol : Aqua dest. (5:4:1), Laufzeit 9 Stunden bei 27° C; s = Standardabweichung, vk = Variationskoeffizient (vk = s:Rf x 1oo)

Steroide	Rf	s	vk
Pregnenolon	o.65o	o.o14	2.14o
Androsteron	o.23o	o.oo5	2.368

Tabelle 4: Rf-Werte der Steroide nach Acetylierung und Trennung in einem Bush AO System, Laufmittel Petroleumbenzin : Methanol (1:1), Laufzeit 4 Stunden bei 4° C; s = Standardabweichung, vk = Variationskoeffizient

VI. Enzymaktivitäten

Da in dieser Arbeit keine getrennten enzymatischen Bestimmungen vorgenommen wurden, sind Aussagen über Veränderungen der Enzymaktivitäten bei Kryptorchismus nur mit Einschränkungen möglich.

Die Aktivität einzelner Enzyme wurde ausgedrückt als die Summe aller durch das Enzym umgesetzten Steroide. Da Messungen enzymatischer Aktivitäten normalerweise bei Substratsättigung erfolgen, ist eine Aussage über die Aktivität eines Enzyms hier nur zulässig, wenn gleichzeitig vorangegangene Reaktionen berücksichtigt werden, die das Substratangebot beeinflussen (Abb.1, 2). Im einzelnen wurden definiert:

Δ5-3β-HSD- zusammen mit der Isomerase-Aktivität wurden angenommen als die Summe aller Δ4-3-Ketosteroide einschließlich aller hier untersuchten Testosteronmetaboliten.
Die 17α-Hydroxylase-Aktivität wurde berechnet aus der Summe der Werte für 17-OH-Pregnenolon, DHA, Δ5-Androstendiol, 17-OH-Progesteron, Androstendion, Testosteron sowie sämtliche Testosteronmetabolite.
Die Aktivität der C17-C2o-Lyase entsprachen den Werten für DHA, Δ5-Androstendiol, Androstendion, Testosteron und 17β-Hydroxyl- sowie 17-Keto-Metabolite.
17β-HSD-Aktivität wurde berechnet als Δ5-Androstendiol, Testosteron und Metabolite.
Die 5α-Reductase-Aktivität schließlich wurde definiert als die Summe aller Testosteronmetabolite.

Diese Einteilung stimmt weitgehend mit der von Inano et al. 1967 verwendeten überein (5o). Nur für die 17β-HSD wurden neben Δ5-Androstendiol und Testosteron sämtliche Testosteronmetabolite mit berechnet, da sie ebenfalls von der 17β-HSD abhängig sind.

D. E R G E B N I S S E

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind in den Tabellen 5 bis 11 zusammengefaßt. Werte der Tabellen 5, 6, 9, 1o und 11 sind Prozentangaben, die den Anteil des Steroids an der Substratconversion widerspiegeln

Berechnung: Die Bioconversionsraten einzelner Steroide wurden berechnet aus der im Tri-Carb-Szintillationszähler gemessenen Aktivität der entsprechenden chromatografisch getrennten Bereiche. Jeder Bereich wurde 2 x 1o Minuten bei einem Gain von 5o % im H3-Kanal und 5,15 % im C14-Kanal bei gleichzeitiger Background-Subtraktion gezählt. Daraus wurde der Durchschnittswert in Counts/1o Min. für jeden Bereich errechnet.

Als 1oo % diente die Summe der durchschnittlichen Counts/ 1o Minuten aller 8 Bereiche der ersten Dünnschichtchromatografie. Die Aktivität der 8 Bereiche in Counts/1o Min. wurde in Prozent ausgedrückt. Weitere Auftrennungen der Bereiche 2, 3 und 4 (Abbildung 3) wurden auf die Prozentwerte der ersten Chromatografie umgerechnet.

Bei doppeltmarkierten Inkubationen mit H3-Pregnenolon und C14-Progesteron wurde die Streuung der C14-markierten Substanzen in den H3-Kanal (durchschnittlich 4,55 %) durch Bestimmung eines externen Standards ermittelt. Mit Hilfe eines Computerprogramms (Dr. Brüggmann) wurden die gemessenen H3- und C14-Werte entsprechend korrigiert.

I. Rattenhoden

In Tabelle 5 und Tabelle 6 sind die Ergebnisse der in vitro Bioconversion von H3-Pregnenolon dur 1 g Hodengewebe prä- und postpubertär kryptorcher Wistar-Ratten zusammengefaßt. Die Werte sind ausgedrückt in Prozent metabolisiertes Substrat bezogen auf die gemessene Aktivität der getrennten Metabolite.

Substratumsatz

H3-Pregnenolon als Substrat wurde von Hodenhomogenat kryptorcher Ratten zwischen 8o und 97 % metabolisiert. Dabei zeigten die reifen Tiere eine stärkere Conversion des Substrats als jüngere Tiere.

Chronologisches Alter (Tage)	2o	24	3o	35	45	56	7o
Substratmetabolite \ Kryptorchismusdauer	4	8	14	19	29	4o	54
unbekannte Fraktion	13.o2	12.99	1o.83	19.79	18.68	15.9o	17.45
17-OH-Pregnenolon	12.16	16.73	15.71	27.28	19.78	13.96	12.o8
Dehydroepiandrosteron	2.23	1.12	1.o8	1.35	o.31	2.52	1.43
Androstendiol	o.63	1.56	2.12	1.36	o.77	o.58	o.52
Progesteron	3.77	1.22	o.11	o.16	o.25	o.1o	o.57
17-OH-Progesteron	4.82	6.2o	3.63	7.9o	3.7o	2.29	3.85
Androstendion	11.o1	18.52	6.o5	12.16	35.oo	16.96	15.38
Testosteron	8.23	8.68	4.71	12.87	11.oo	32.87	39.24
Androstandion	o.23	o.18	o.36	o.29	o.48	o.1o	o.o8
Androsteron	14.34	7.2o	3.14	3.52	2.71	1.8o	1.65
Dihydrotestosteron	9.18	3.91	5.1o	1.17	o.99	o.66	1.46
Androstandiol	2o.39	21.68	47.16	12.14	6.35	12.25	6.29

Tabelle 5: Ergebnisse in Prozent Bioconversion von H3-Pregnenolon nach Inkubation von 1 g Hodengewebe präpubertär kryptorcher Wistar-Ratten während der sexuellen Reifung.

Chronologisches Alter (Tage)	32	36	42	47	57	68	82
Substratmetabolite \ Kryptorchismusdauer	4	8	14	19	29	4o	54
unbekannte Fraktion	1o.o7	16.23	14.31	19.74	18.55	2o.24	15.67
17-OH-Pregnenolon	16.67	24.4o	12.16	21.18	24.31	13.44	1o.o7
Dehydroepiandrosteron	o.46	1.o6	1.25	2.11	4.33	1.25	1.45
Androstendiol	1.32	o.54	1.59	1.37	o.89	o.48	o.84
Progesteron	2.54	o.8o	o.19	o.o9	o.21	o.45	o.39
17-OH-Progesteron	7.55	12.68	4.91	4.2o	4.2o	7.83	2.38
Androstendion	7.12	11.61	11.72	13.78	16.71	6.26	12.22
Testosteron	4.45	15.57	15.o7	21.87	18.47	42.41	46.66
Androstandion	2.63	o.26	o.31	o.17	o.17	o.45	o.o7
Androsteron	5.o3	3.73	4.24	2.61	4.25	1.31	2.35
Dihydrotestosteron	14.68	1.32	3.44	o.66	1.o7	o.74	1.42
Androstandiol	27.48	11.78	3o.81	12.23	6.85	5.15	6.51

Tabelle 6: Ergebnisse in Prozent Bioconversion von H3-Pregnenolon nach Inkubation von 1 g Hodengewebe postpubertär kryptorcher Wistar-Ratten während der sexuellen Reifung.

17 - O H - P r e g n e n o l o n

Der Verlauf der 17-OH-Pregnenolonwerte ist für beide Tiergruppen prinzipiell derselbe. Bei den postpubertär kryptorchen Tieren stiegen die Werte von 16 % nach einer Woche Kryptorchismus auf Werte über 2o %. Nach 4 Wochen Kryptorchismus fielen die 17-OH-Pregnenolonwerte bis zum Ende der Versuchsdauer auf 1o % ab.

Die präpubertäre Gruppe hatte nach zwei bis drei Wochen Kryptorchismus einen 17-OH-Pregnenolon-Anstieg von 15 % auf 27 %. Danach fielen die Werte gleichmäßig ab. Nach 54 Tagen Kryptorchismus wiesen auch sie wieder Werte um 12 % auf (siehe Abbildung).

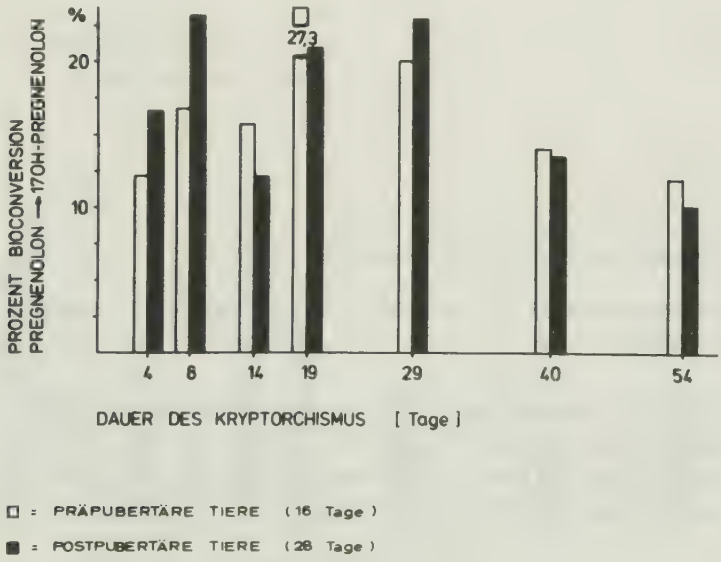


Abbildung 7: 17-Hydroxy-Pregnenolon

Dehydroepiandrosteron

Dehydroepiandrosteron (DHA) zeigte keinen markanten Verlauf.

Bei der postpubertär kryptorchen Gruppe nimmt DHA bis zum 29. Tag nach Kryptorchismus leicht zu (4,33 %). Davor und danach liegen die DHA-Werte um 1 %.

Die präpubertär kryptorchen Tiere weisen nach 4o Tagen Kryptorchismus einen DHA-Gipfel auf (2,52 %). Alle übrigen Werte dieser Gruppe liegen ebenfalls um 1 % (siehe Abbildung 8).

Δ5 - Androstendiol

Δ5-Androstendiol ist ebenfalls nur in geringem Ausmaß vorhanden.

Für beide Altersgruppen steigen die Δ5-Androstendiolwerte nach 14 Tagen Kryptorchismus auf 2,12 % bzw 1.59 % an. Danach sind nur noch Spuren von weniger als 1 % Δ5-Androstendion nachzuweisen (Abbildung 9)

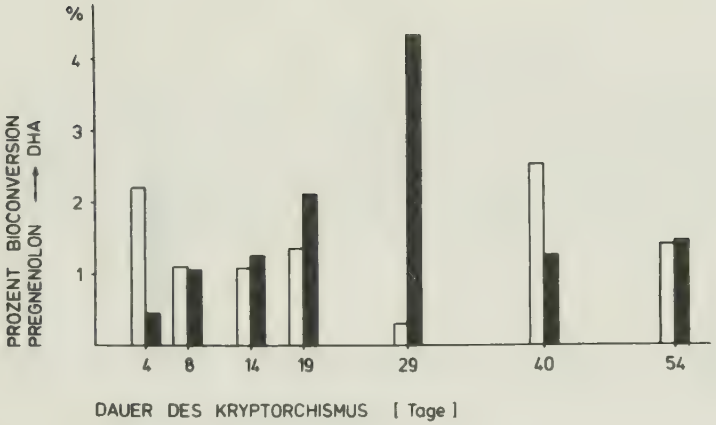


Abbildung 8: Dehydroepiandrosteron

□ = PRÄPUBERTÄRE TIERE (16 Tage)

■ = POSTPUBERTÄRE TIERE (28 Tage)

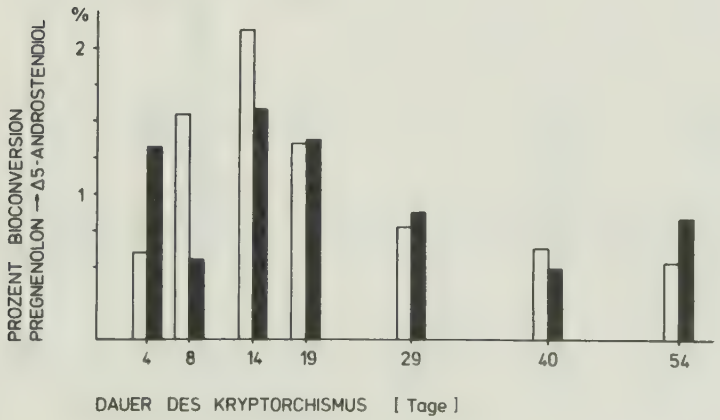


Abbildung 9: Androstendiol

Progesteron

Progesteron war nur in den ersten 8 Tagen nach Kryptorchismus in etwas höherer Menge nachweisbar (3,77 % bzw. 2,54 % nach 4 Tagen und 1,22 % bzw. o,8o % nach 8 Tagen). Nach längerer Versuchsdauer konnte nie mehr als o,5 % Progesteron festgestellt werden (Abbildung 1o).

17 - OH - Progesteron

Die 17-OH-Progesteronwerte zeigen keinen eindeutigen Verlauf während des Versuchs. Die Resultate schwanken zwischen 2,29 % und 12,68 % ohne daß eine bestimmte Tendenz abzuleiten wäre (Abbildung 11).

Meist wies die postpubertär kryptorche Gruppe höhere 17-OH-Progesteronwerte auf als die präpubertäre Gruppe.

Beachtenswert erscheint auch, daß 17-OH-Progesteron in verhältnismäßig großem Umfang gebildet wurde, im Gegensatz zu Progesteron, dessen unmittelbaren Vorläufer auf dem $\Delta 4$-Syntheseweg.

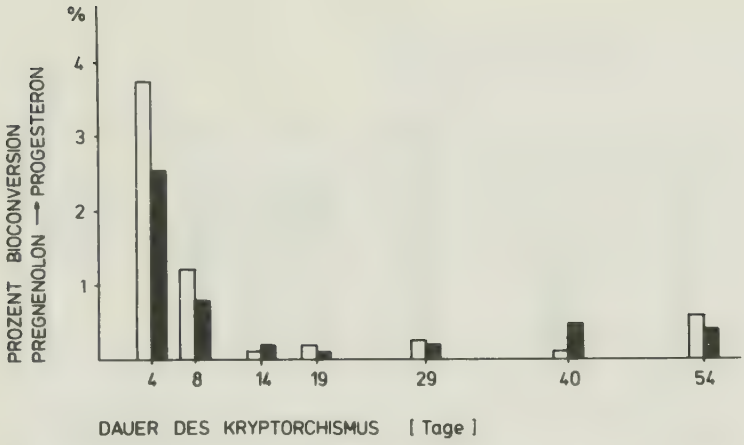


Abbildung 1o: Progesteron

□ = PRÄPUBERTÄRE TIERE (16 Tage)

■ = POSTPUBERTÄRE TIERE (28 Tage)

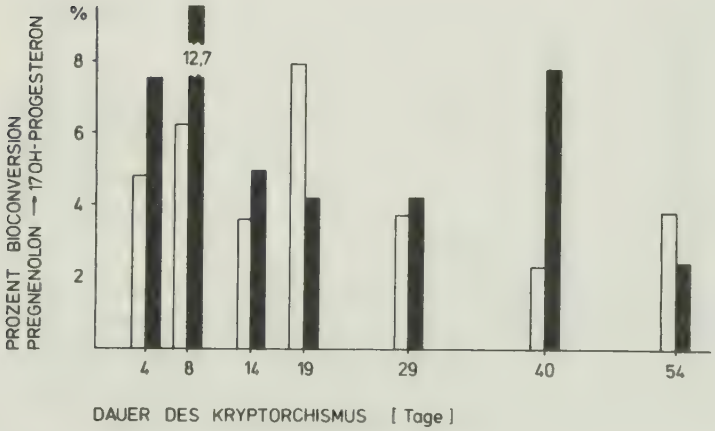


Abbildung 11: 17-Hydroxy-Progesteron

Androstendion

Bei Androstendion wurden Unterschiede zwischen beiden Versuchsgruppen deutlich.

Nur 14 und 19 Tage nach Kryptorchismus hatte die postpubertäre Gruppe höhere Werte. Sonst zeigten die präpubertär kryptorchen Tiere höhere Androstendionwerte, besonders deutlich 29 und 4o Tage nach Operation.

Bei den präpubertär kryptorchen Tieren stieg Androstendion allmählich von 7,12 % auf Werte bis 16,71 % am 29. Tag nach Kryptorchismus. Danach fielen die Androstendionwerte wieder auf 12,22 % gegen Ende des Versuchs (Abbildung 12).

Testosteron

Trotz quantitativer Unterschiede hatten die Testosteronkurven beider Gruppen denselben Verlauf: mit zunehmender Reife wurde vermehrt Testosteron produziert.

Mit Ausnahme der 32 Tage alten Tiere hatte die postpubertär kryptorche Gruppe stets höhere Werte, besonders ausgeprägt in den ersten 4 Wochen nach Kryptorchismus (8,68 %, 4,71 %, 12,87 %, 11.oo % und 32,87 % für die präpubertäre und 15,57 %, 15,o7 %, 21,87 %, 18,47 % und 42,41 % für die postpubertäre Gruppe).

Während die 28 Tage alte Tiergruppe schon im Laufe der ersten 4 Wochen einen Anstieg der Testosteronsynthese auf Werte zwischen 15 und 2o % hatte, erreichten die präpubertär kryptorchen Tiere erst nach der 4. Woche des Kryptorchismus ähnliche Werte (Abbildung 13).

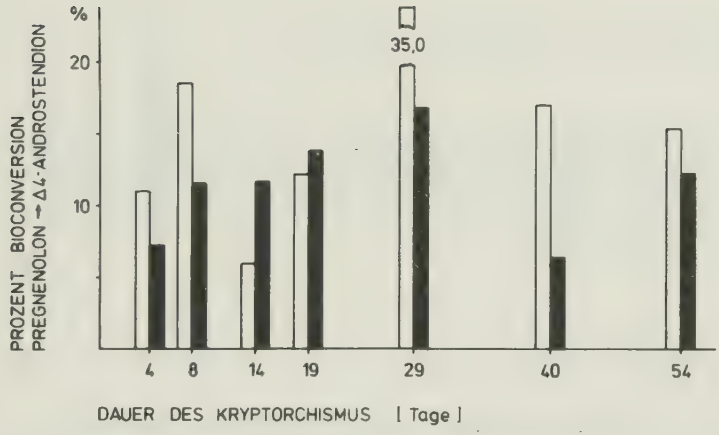


Abbildung 12: Androstendion

□ = PRAPUBERTARE TIERE (16 Tage)

■ = POSTPUBERTARE TIERE (28 Tage)

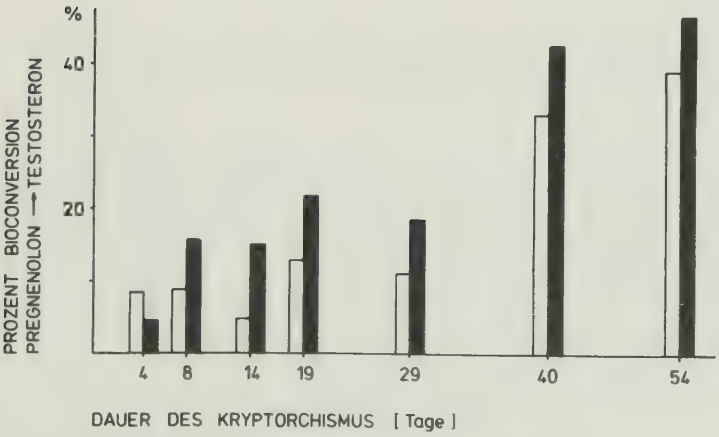


Abbildung 13: Testosteron

17 - K e t o - M e t a b o l i t e

17-Keto-Metabolisierungsprodukte hatten nur geringen Anteil am Testosteronmetabolismus. Mit zunehmender Reife zeigten sich für beide Versuchsgruppen eine Abnahme der 17-Keto-Produkte.

A n d r o s t a n d i o n

konnte kaum nachgewiesen werden. Mit einer Ausnahme (2,63 % bei den 32 Tage alten Tieren) lagen alle Androstandionwerte unter o,5 % (Abbildung 14).

A n d r o s t e r o n

fiel bei der präpubertären Tiergruppe von 14,34 % über 7,2o % auf Werte um 2 % ab.

Bei der postpubertär kryptorchen Gruppe war der Abfall der Androsteronwerte mit zunehmender Reife nicht so ausgeprägt: von anfänglich 5,o3 % fiel Androsteron in dieser Gruppe gegen Ende der Versuchsdauer auf Werte von 1 bis 2 % ab (Abbildung 15).

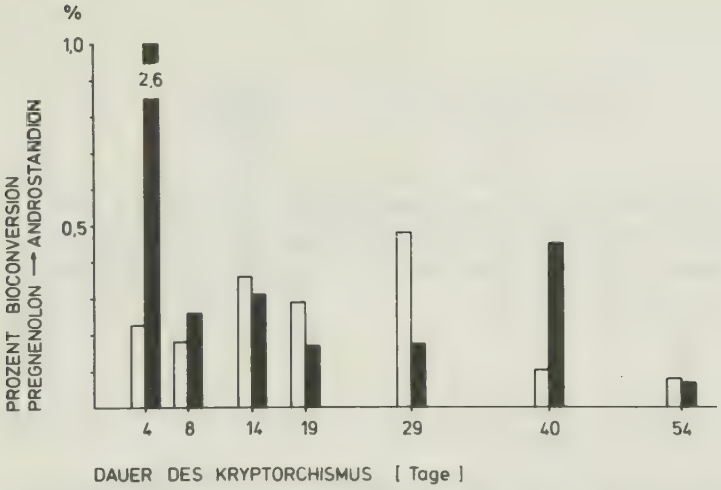


Abbildung 14: Androstandion

□ = PRÄPUBERTÄRE TIERE (16 Tage)

■ = POSTPUBERTÄRE TIERE (28 Tage)

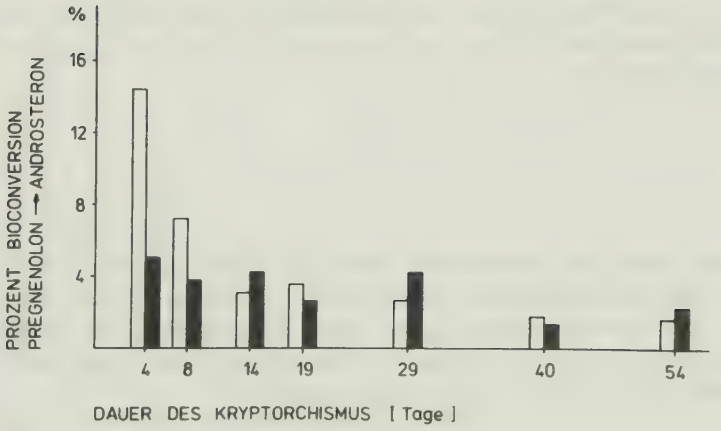


Abbildung 15: Androsteron

17β - Hydroxyl-Metabolite

Dieser Metabolisierungsweg des Testosteron überwog für beide Tiergruppen verglichen mit dem 17-Keto-Weg. Wie bei den Metaboliten des 17-Keto-Wegs war auch hier eine Abnahme der Testosteronmetabolisierung mit zunehmendem Alter festzustellen.

Androstandiol

war Hauptmetabolit des Testosteron. Beide Altersgruppen zeigten nach 14 Tagen einen Androstandiolpeak (47,16 % bzw. 3o,81 %), danach folgte ein starker Abfall des Androstandiols mit zunehmender Reife der Tiere. Gegen Ende des Versuchs lagen die Androstandiolwerte um 6 %.

Die Androstandiolwerte beider Gruppen differierten deutlich. Präpubertär kryptorche Tiere zeigten zwischen dem 24. und 3o. Lebenstag eine erhöhte Fähigkeit zur Testosteronmetabolisierung mit Maximalwerten von 47,16 % gegenüber Maximalwerten der postpubertären Gruppe von 3o,81 % (Abbildung 16).

Dihydrotestosteron

(DHT) nahm mit zunehmendem Alter in beiden Versuchsgruppen ab. Bei 9,18 % für die präpubertäre Tiergruppe und 14,68 % für die postpubertäre Gruppe lagen die DHT-Werte zu Anfang des Versuchs; nach 54 Tagen Kryptorchismus waren die DHT-werte auf 1 % abgefallen (Abbildung 17).

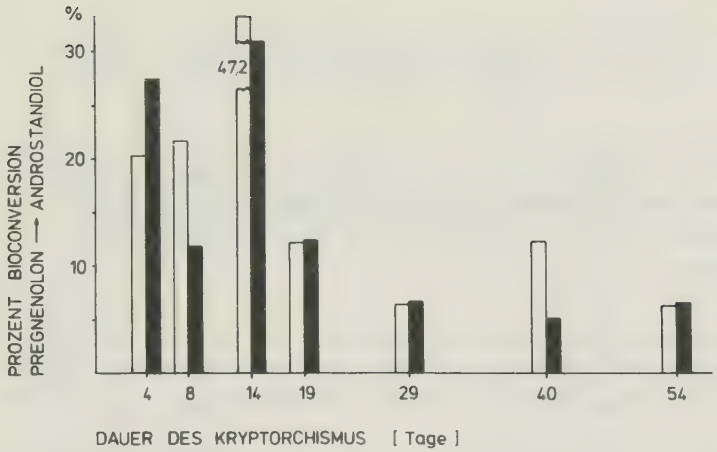


Abbildung 16: Androstandiol

□ = PRAPUBERTARE TIERE (16 Tage)

■ = POSTPUBERTARE TIERE (28 Tage)

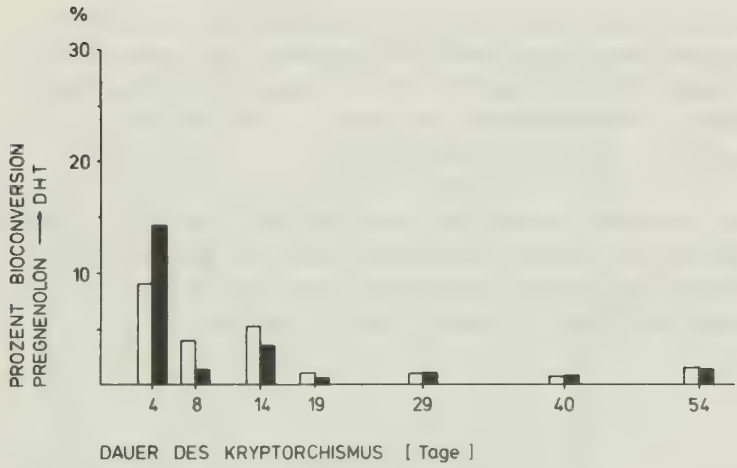


Abbildung 17: Dihydrotestosteron

Körpergewicht, Hodengewicht

Vor jeder Inkubation wurden von der prä- und postpubertären Gruppe jeweils vier Tiere gewogen. Das Hodengewicht der vier Tiere wurde nach Entnahme ebenfalls bestimmt.

Tabelle 7 und Tabelle 8 geben eine Übersicht über Körpergewicht und Hodengewicht der prä- und postpubertär kryptorchen Tiere während der sexuellen Reifung.

Während das Körpergewicht der postpubertär kryptorchen Tiergruppe mit den Normalwerten identisch war, wogen die präpubertär kryptorchen Tiere stets mehr als die altersentsprechenden Normaltiere (Abbildung 4o). Außerdem zeigten die 56 und 7o Tage alten Tiere der präpubertären Gruppe große individuelle Schwankungen des Körpergewichts.

Stärkere Abweichungen von den Normalwerten waren beim Gewicht kryptorcher Hoden aufgetreten. Die Normaltiere zeigten zwischen dem 3o. und 6o. Lebenstag eine gleichmäßige Gewichtszunahme des Hodens um 25o mg/Woche, danach ein langsameres Wachstum.

Das Wachstum kryptorcher Hoden war bis etwa zum 45. Lebenstag normal. Danach sistierte das Wachstum der kryptorchen Hoden. Postpubertär kryptorche Hoden wiesen sogar eine deutliche Gewichtsreduktion auf (Abbildung 41).

Präpubertär kryptorche Tiere				Postpubertär kryptorche Tiere			
Alter (Tg)	Kryptorch. Dauer (Tg)	Körpergewicht (g)	s	Alter (Tg)	Kryptorch. Dauer (Tg)	Körpergewicht (g)	s
2o	4	36.13	1.32	32	4	66.75	2.84
24	8	51.75	8.98	36	8	8o.75	11.19
3o	14	66.25	9.74	42	14	1o5.75	5.91
35	19	98.25	7.23	47	19	126.75	5.19
45	29	147.38	2.75	57	29	164.25	15.65
56	4o	186.oo	16.33	68	4o	197.5o	5.88
7o	54	24o.oo	32.7o	82	54	242.5o	19.96

Tabelle 7 : Durchschnittliches Körpergewicht (g) prä- und postpubertär kryptorcher Wistar-Ratten während der sexuellen Reifung; s = Standardabweichung

Präpubertär kryptorche Tiere				Postpubertär kryptorche Tiere			
Alter (Tg)	Kryptorch. Dauer (Tg)	Hoden-gewicht (mg)	s	Alter (Tg)	Kryptorch. Dauer (Tg)	Hoden-gewicht (mg)	s
2o	4	99.25	22.45	32	4	335.13	25.73
24	8	2oo.13	31.7o	36	8	414.75	4o.97
3o	14	324.88	68.77	42	14	636.88	6o.88
35	19	457.88	1o8.34	47	19	6o8.oo	139.83
45	29	672.oo	218.36	57	29	847.5o	171.6o
56	4o	677.63	129.24	68	4o	434.62	8o.97
7o	54	868.38	138.32	82	54	588.13	217.26

Tabelle 8 : Durchschnittliches Hodengewicht (mg) prä- und postpubertär kryptorcher Wistar-Ratten während der sexuellen Reifung; s = Standardabweichung

II. Menschliches Hodengewebe

Bei der Inkubation von Hodengewebe normaler und kryptorcher Knaben zwischen 1 Tag und 15 Jahren wurden Doppelmarkierungen mit H3-Pregnenolon und C14-Progesteron als Substrat durchgeführt. Für jedes untersuchte Steroid wurde der H3- und der C14-Anteil bestimmt.

In den Tabellen 9 - 11 sind die Ergebnisse der in vitro Bioconversion von H3-Pregnenolon und C14-Progesteron durch normales und kryptorches menschliches Hodengewebe unterschiedlichen Alters zusammengefaßt. Die Werte sind ausgedrückt in Prozent metabolisiertes Substrat bezogen auf die gemessene Aktivität der getrennten Metabolite.

Substratumsatz

Mit H3-Pregnenolon als Substrat wurde von normalem und kryptorchem menschlichem Hodengewebe zwischen 26 und 32 % metabolisiert. Dagegen wurde C14-Progesteron nur zu 7 bis 1o % zu Folgeprodukten umgewandelt.

Die Resultate bilateral kryptorcher menschlicher Hoden ließen keine altersabhängige Bioconversion erkennen, wie z. B. bei kryptorchen Rattenhoden. Deshalb werden nachfolgend die untersuchten Steroide unabhängig vom Alter der Proben besprochen.

Substratmetabolite:	H3-Pregnenolon als Substrat				C14-Progesteron als Substrat			
Chronolog. Alter:	1 Tag	2 Mon.	1 Jahr	5 Jahre	1 Tag	2 Mon.	1 Jahr	5 Jahre
unbekannte Fraktion	5.22	7.o3	6.58	12.57	16.69	15.68	6.oo	17.o3
17-OH-Pregnenolon	5.72	7.9o	4.54	4.7o	-	-	-	-
D H A	2.64	9.3o	2.65	4.1o	-	-	-	-
Androstendiol	o.4o	2.4o	1.59	3.9o	-	-	-	-
Progesteron	48.oo	24.1o	48.41	13.4o	-	-	-	-
17-OH-Progesteron	o.43	o.2o	o.55	o.4o	9.2o	3.6o	1.2o	6.7o
Androstendion	o.o9	8.6o	1.1o	9.9o	6.39	25.5o	5.11	21.8o
Testosteron	3.11	6.6o	9.o6	18.9o	1o.69	42.2o	59.91	28.2o
Androstandion	-	1.7o	1.48	o.9o	o.89	o.4o	o.62	2.4o
Androsteron	32.52	2.5o	8.31	9.oo	24.51	1.2o	5.95	5.6o
D H T	1.4o	o.8o	2.47	2.2o	o.31	1.2o	2.o8	2.7o
Androstandiol	o.48	2.8o	13.22	3.8o	o.o9	3.7o	o.34	2.7o

Tabelle 9 : Ergebnisse in Prozent Bioconversion von H3-Pregnenolon und C14-Progesteron nach Inkubation von Hodengewebe gesunder Knaben im Alter von 1 Tag bis 5 Jahren.

Chronologisches Alter (Jahre) / H3-Metabolite	2	4	5	6	7	8	9	11	12.5	15
unbekannte Fraktion	6.61	25.9o	7.11	6.85	9.53	3.84	6.38	9.54	3.98	5.14
17-OH-Pregnenolon	4.92	o.22	o.21	8.19	4.52	2.89	13.13	o.89	o.3o	4.94
D H A	1.o1	3.95	3.25	1.39	2.o4	1.59	2.o4	2.37	4.o1	2.52
Androstendiol	o.85	1.15	o.14	o.15	2.14	o.97	1.o7	-	-	o.95
Progesteron	41.78	55.38	76.4o	55.87	58.11	34.18	56.86	66.22	66.o1	54.77
17-OH-Progesteron	o.o6	-	1.36	-	1.28	o.66	o.o8	o.o5	1.o3	2.16
Androstendion	o.o4	o.15	o.4o	o.o3	-	o.31	o.13	o.33	o.o3	o.o7
Testosteron	1.o1	o.o6	o.o4	o.45	2.7o	-	1.37	o.58	2.95	2.95
Androstandion	o.1o	o.o3	o.o6	o.o6	o.12	o.16	-	o.13	o.38	-
Androsteron	4o.96	1o.37	8.49	3.72	16.oo	53.72	18.49	3.74	17.75	24.72
D H T	2.65	2.79	o.39	23.18	2.62	1.68	o.43	14.42	2.39	1.56
Androstandiol	-	-	o.19	o.1o	o.95	o.o1	-	1.72	1.41	o.21

Tabelle 1o : Ergebnisse in Prozent Bioconversion von H3-Pregnenolon nach Inkubation von Hodengewebe bilateral kryptorcher Knaben im Alter von 2 bis 15 Jahren.

Chronologisches Alter (Jahre) / C14-Metabolite	2	4	5	6	7	8	9	11	12.5	15
unbekannte Fraktion	17.48	17.96	19.54	15.oo	15.86	9.61	21.8o	3o.12	5.18	18.44
17-OH-Progesteron	3.72	1.58	6.31	2.2o	3.79	2.o4	5.7o	2.o8	4.49	5.18
Androstendion	5.78	3.56	17.9o	4.19	4.82	5.8o	4.66	6.87	3.44	7.8o
Testosteron	o.64	2.35	o.64	9.98	2o.13	o.49	5.6o	7.28	1.27	7.23
Androstandion	3.1o	3.51	3.14	3.o7	3.31	5.12	4.79	1.23	3.51	1.29
Androsteron	31.13	25.61	24.53	25.61	2o.oo	31.12	22.53	22.46	34.32	24.66
D H T	o.71	o.75	o.61	2.37	o.27	1.o7	o.55	1.o9	o.45	1.o1
Androstandiol	o.o2	o.27	o.o9	o.12	o.19	o.o8	o.31	o.36	o.18	o.o7

Tabelle 11 : Ergebnisse in Prozent Bioconversion von C14-Progesteron nach Inkubation von Hodengewebe bilateral kryptorcher Knaben im Alter von 2 bis 15 Jahren.

Δ5 - Produkte

Bei den Produkten des Δ5-Synthesewegs wurden C14-markierte Substanzen gemessen (mit Progesteron als Substrat). Hierbei handelt es sich entweder um Artefakte oder nicht identifizierte Substanzen, da eine Umwandlung von Δ5- in Δ4-Steroide nie beobachtet wurde.

Hauptmetabolit des H3-Pregnenolon auf dem Δ5-Weg war in 6 Fällen 17-OH-Pregnenolon mit Werten zwischen 2,89 und 13,13 %. Bei den restlichen 4 Hodenproben überwog der DHA-Wert mit 2,37 bis 4.01 %. Δ5-Androstendiol war nur in geringeren Mengen nachzuweisen (0,15 - 2,14 %).

Bei den Normalwerten der Δ5-Produkte waren in 3 Fällen 17-OH-Pregnenolon (4,54 - 5,72 %) und einmal DHA (2,64 - 9,3 %) Hauptprodukte des Δ5-Synthesewegs. Ein Unterschied zu den kryptorchen Hodeninkubationen war nicht eindeutig zu erkennen (Abbildung 18).

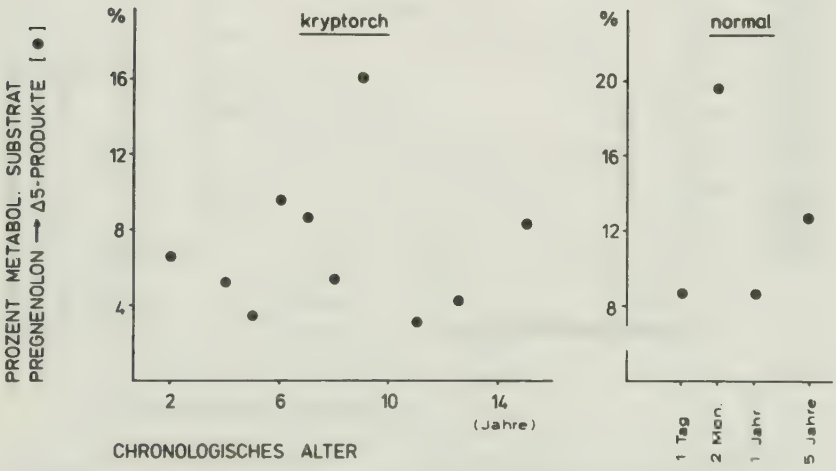


Abbildung 18 : Δ5-Produkte (17-OH-Pregnenolon, D H A, Androstendiol)

P r o g e s t e r o n

In 9 der 1o Inkubationen mit kryptorchen Hoden war Progesteron Hauptmetabolit des H3-Pregnenolon. H3-Progesteronwerte lagen zwischen 34,18 und 76,4 %. Vergleiche mit den übrigen untersuchten Hormonwerten ergaben für Progesteron relativ konstante Werte in allen Inkubationen.

Die Normalhoden hatten H3-Progesteronwerte zwischen 13,4 und 48,4 %. In drei der vier Proben war ebenfalls Progesteron Hauptmetabolit des H3-Pregnenolon (Abbildung 19).

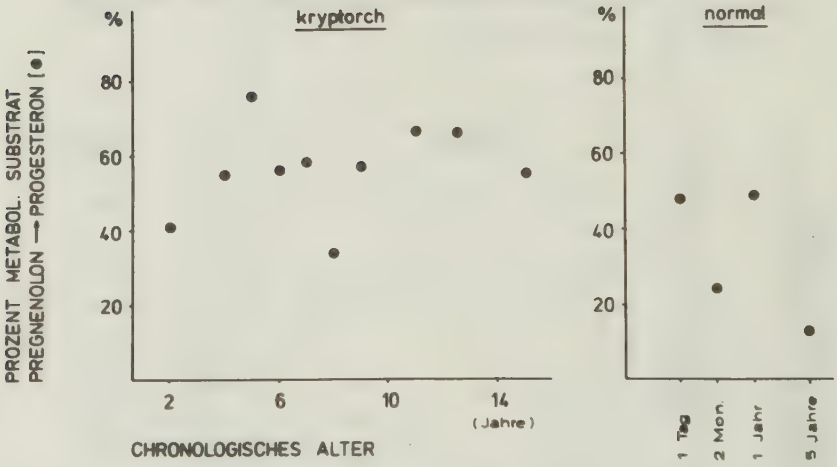


Abbildung 19 : Progesteron

Δ 4 - P r o d u k t e

Androstendion hatte den größten Anteil an den Δ4-Produkten (3,44 bis 17,9 %) bei den kryptorchen Hoden. Zweimal überwogen die 17-OH-Progesteron-Werte (1,58 bis 6,31 %). Bei den kryptorchen Hoden stammten beide Δ4-Produkte fast ausschließlich von C14-Progesteron als Substrat.

Das Normalgewebe hatte für Δ4-Produkte ebenfalls höhere C14- als H3-Werte, jedoch nicht so ausgeprägt wie bei kryptorchen Hoden.
Androstendion (5,11 bis 25,5 %) war in drei der vier Fälle Hauptvertreter der Δ4-Produkte und zeigte für die Normalhoden immer höhere Werte als für altersgleiche kryptorche Hoden (Abbildung 2o).
17-OH-Progesteron (1,2o bis 9,2o %) war nur bei dem 1 Tag alten Hoden höher als entsprechende Androstendionwerte.

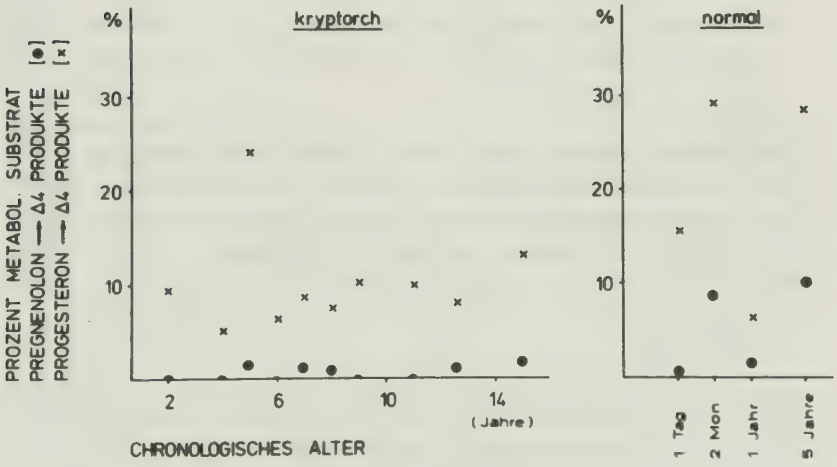


Abbildung 2o : Δ4-Produkte (17-OH-Progesteron + Androstendion)

Testosteron

Sehr stark schwankten die Testosteronwerte einzelner Proben. Werte zwischen o,49 und 2o,13 % wurden für C14-markiertes Testosteron gemessen. H3-markiertes Testosteron war nur in geringen Mengen nachweisbar (o bis 2,95 %).

Ein deutlicher Anstieg der Testosteronwerte mit zunehmendem Alter konnte nicht registriert werden. So hatte ein 7 Jahre alter kryptorcher Hoden Testosteronwerte von 2o %, ein 12,5 Jahre alter kryptorcher Hoden nur Werte bei 1 %. Insgesamt wurde mit Progesteron als Substrat mehr Testosteron gebildet als mit Pregnenolon (Abbildung 21).

Die Testosteronwerte der Normalhoden waren stets höher als die der altersentsprechenden kryptorchen Hoden. C14-markiertes Testosteron schwankte zwischen 9,o6 und 59,91 %. H3-markiertes Testosteron zeigte mit zunehmendem Alter der Proben einen Anstieg der Werte von 3,11 % für den 1 Tag alten Hoden auf 18,9 % für den 5 Jahre alten Hoden.

Bereits hier wird deutlich, daß die Testosteronsynthese kryptorcher menschlicher Hoden in vitro sehr stark von den Syntheseraten altersgleicher gesunder Hoden abweicht. Nur die Testosteronwerte des gesunden Neugeborenen (1 Tag alt) korrelieren mit den Werten kryptorcher Hoden.

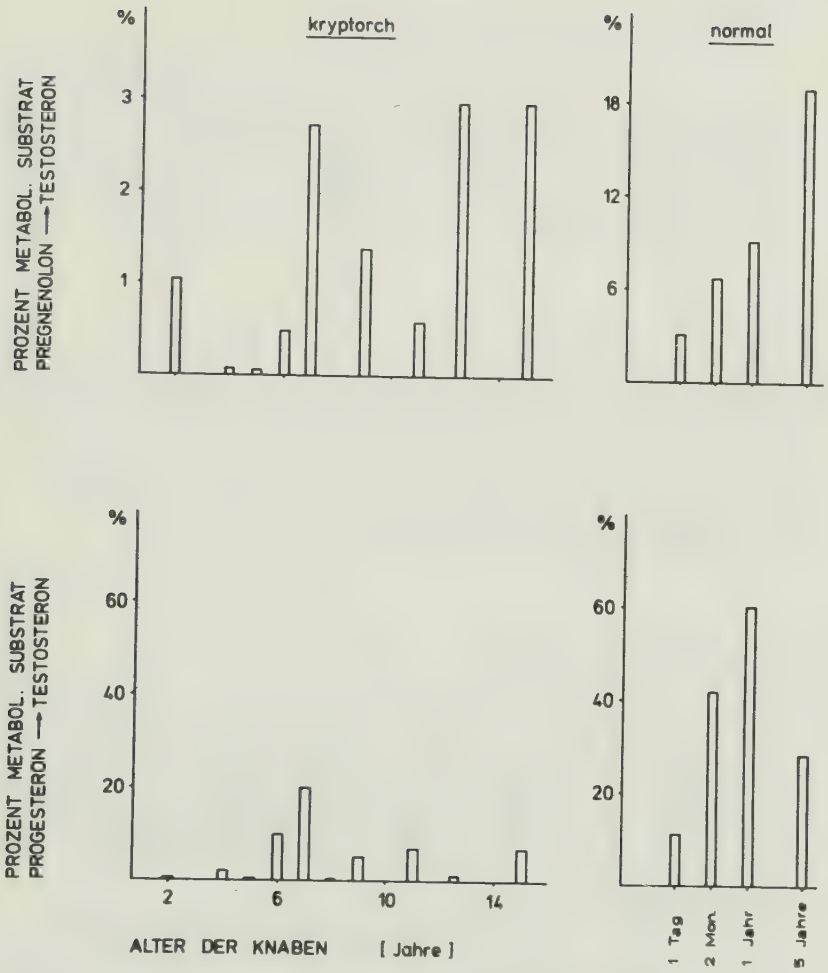


Abbildung 21 : Bioconversion von H3-Pregnenolon bzw. C14-Progesteron zu Testosteron durch Hodengewebe normaler sowie bilateral kryptorcher Knaben (in Prozent metabolisiertes Substrat)

17 - K e t o - M e t a b o l i t e

Die 17-Keto-Produkte waren stärker am Testosteronmetabolismus beteiligt als die 17β-Hydroxyl-Metabolite. Auffällig war auch die Differenz der Androsteronwerte zwischen normalen und kryptorchen Proben; kryptorches menschliches Hodengewebe zeigte eine stärkere Testosteronmetabolisierung auf dem 17-Keto-Weg als normales Gewebe.

A n d r o s t a n d i o n

konnte nur als C14-markierte Substanz nachgewiesen werden und machte den kleineren Anteil der 17-Keto-Metabolite aus mit 1,23 bis 5,12 % für kryptorche Hoden.

In Normalhoden war Androstandion nur in minimalen Mengen vorhanden, zwischen o,4 und 2,4 %.

A n d r o s t e r o n

war in 7 Fällen zum größten Teil C14-markiert, 3 Patienten hatten höhere H3-Androsteronwerte. In allen kryptorchen Hoden war C14-Androsteron Hauptmetabolit mit 2o,oo bis 34,32 %. H3-Androsteron war hinter dem primär gebildeten H3-Progesteron in 8 Inkubationen Hauptmetabolit des Pregnenolon (3,72 bis 53,72 %). Zweimal war DHT stärker am Testosteronmetabolismus beteiligt als Androsteron.

Androsteronwerte der Normalhoden lagen mit Ausnahme der jüngsten Probe immer unter den Werten der kryptorchen Hoden. H3-Androsteron (2,5 bis 32,52 %) zeigte für alle 4 Normalproben höhere Werte als C14-Androsteron mit Werten von 1,2 bis 24,51 % (Abbildung 22).

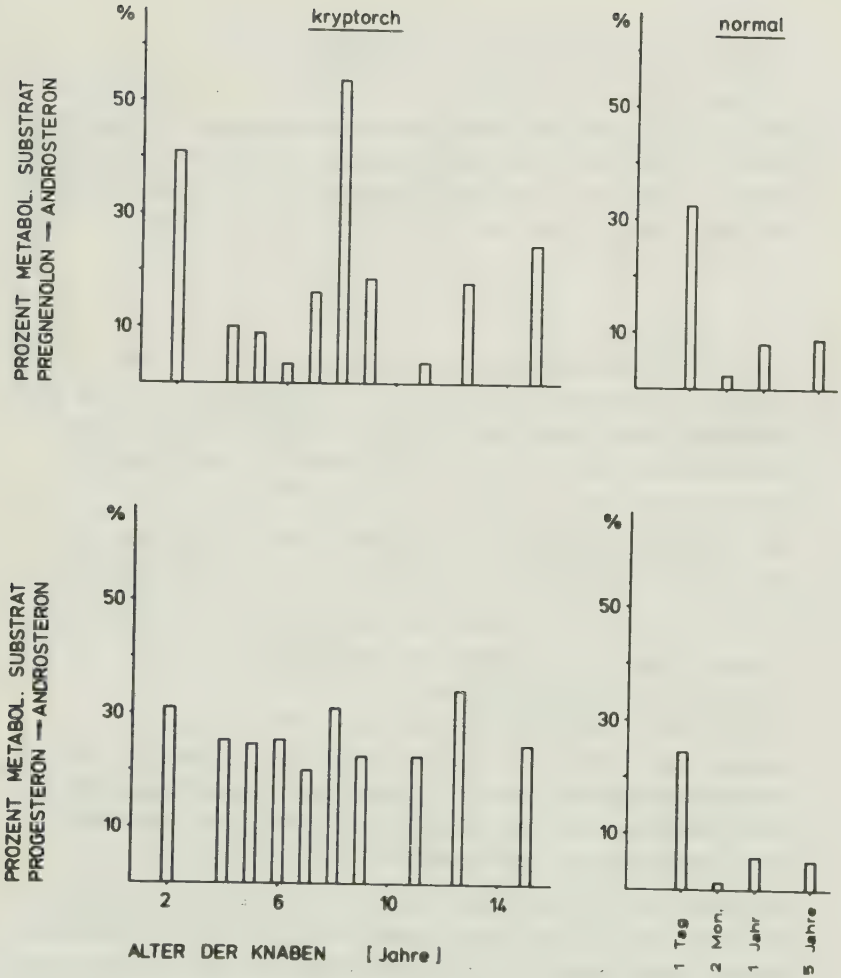


Abbildung 22 : Bioconversion von H3-Pregnenolon bzw. C14-Progesteron zu Androsteron durch Hodengewebe normaler sowie bilateral kryptorcher Knaben (in % metabolisiertes Substrat)

17β - Hydroxyl - Metabolite

Im Gegensatz zu Ergebnissen im Tierversuch waren die 17β-Hydroxyl-Produkte bei menschlichen Gewebsproben nur unwesentlich am Testosteronmetabolismus beteiligt. H3-markierte 17β-Hydroxyl-Produkte waren in 9 von 1o der kryptorchen Proben größer als C14-markierte (Abbildung 23).

Dihydrotestosteron

(DHT) war Hauptvertreter der 17β-Hydroxyl-Metabolite, sowohl in H3-markierter Form (o,39 - 23,18 %) als auch in C14-markierter Form (o,27 - 2,37 %). In zwei Fällen war H3-DHT sogar stärker am Testosteronmetabolismus beteiligt als Androsteron.

Bei normalem Hodengewebe waren H3-DHT-Werte zwischen o,8 und 2,47 %, C14-DHT-Werte zwischen o,31 und 2,o8 %.

Androstandiol

konnte nur in Spuren nachgewiesen werden und war für den Testosteronmetabolismus bei kryptorchen Hoden praktisch ohne Bedeutung (o bis 1,72 % für H3- und o,o2 bis o,36 % für C14-markiertes Androstandiol).

Androstandiol der Normalhoden war in einem Fall (13,22 % H3-Anteil bei 1 Jahr altem Hoden) Hauptmetabolit des Testosteron, sonst ebenfalls ohne Bedeutung für den Testosteronmetabolismus (o,48 bis 13,22 % H3-Androstandiol und o,o9 bis 3,7 % C14-Androstandiol für die Normalhoden).

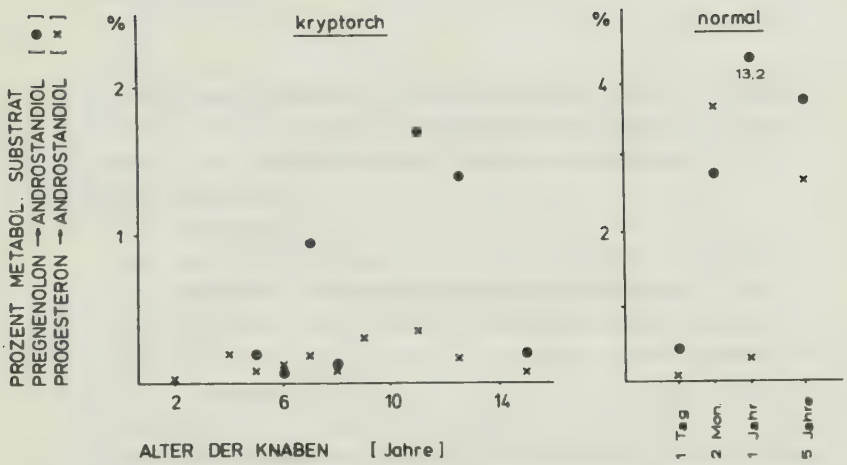


Abbildung 23 : Bioconversion von H3-Pregnenolon bzw. C14-Progesteron zu Androstandiol durch Hodengewebe normaler sowie bilateral kryptorcher Knaben (in % metabolisiertes Substrat)

E. D I S K U S S I O N

Die Diskussion gliedert sich in drei Hauptabschnitte:

I. Substratconversion im Rattenhoden

II. Substratconversion im menschlichen Hoden

III. Vergleich der Substratconversion zwischen Ratten- und menschlichen Hoden

Die in der Diskussion zitierten Normalwerte für die Bioconversion im Rattenhoden wurden aus der Dissertation von Nübel 1977 übernommen (69). Die dort untersuchten Normaltiere waren von derselben Zucht, wurden zur selben Zeit und unter gleichen Bedingungen gehalten wie die kryptorchen Tiere. Die Inkubation, chromatografische Auftrennungen und die Bestimmung der Conversionsraten stimmen mit den in der vorliegenden Arbeit angewandten Methoden überein.

Nachfolgend aufgeführte FSH- und LH-Werte der kryptorchen Ratten wurden von Eichner et al. 1974 bestimmt. Blut für die Gonadotropinbestimmung wurde am Tag der Inkubation entnommen. Näheres darüber ist in der entsprechenden Arbeit nachzulesen (19).

I a. Substratconversion im Rattenhoden in Abhängigkeit vom Alter

Betrachtet man zunächst die Veränderungen der Pregnenolonumwandlung im Rattenhoden mit zunehmendem Alter, so treten bei beiden Versuchsgruppen auffällige Verschiebungen der Substratconversion auf:

1. Während die Zwischenprodukte des $\Delta 5$- und $\Delta 4$-Wegs mit zunehmendem Alter gleich blieben, veränderte sich Androstendion deutlich: die präpubertäre stärker als die postpubertär kryptorche Tiergruppe bot maximale Bioconversionsraten für Androstendion am 29. Tag nach Beginn des artifiziellen Kryptorchismus. Davor und danach lagen die Androstendionwerte deutlich niedriger.

2. Eindeutig ist die altersabhängige Bioconversion zu Testosteron. Mit zunehmeder Reife steigen bei beiden Gruppen die Testosteronwerte von anfänglich unter 1o % auf das 3 bis 5fache zu Ende des Versuchs an. Stärkster Anstieg der Testosteronwerte erfolgte für beide Gruppen am 29. bis 4o. Tag nach Kryptorchismus.

3. Die Testosteronmetabolite zeigen ein umgekehrtes Verhalten. Mit zunehmender Reife nimmt die Testosteronmetabolisierung ab. Nach dem 45. Lebenstag sind die Werte für Androstandiol, DHT und Androsteron um das 3 bis 5fache gefallen.

Wesentlicher Unterschied zwischen jungen Tieren (2o - 4o Tage alt) und älteren Tieren ist ein verändertes Bioconversionsmuster mit zunehmendem Alter. Die gefunden Resultate stimmen mit den Ergebnissen anderer Autoren überein (16, 24, 35, 48, 65, 66, 71, 77, 89).

Inano et al. 1966 zeigten, daß in unreifen Rattenhoden eine hohe 5α-Reductase-Aktivität vorliegt, die erst nach dem 4o. Lebenstag abnimmt. Dies korreliert mit den vermehrten 5α-reduzierten Testosteronmetaboliten, die zu diesem Zeitpunkt gefunden wurden (16, 23, 24, 48, 66). Junge Rattenhoden besitzen ein anderes Enzymmuster als die älterer Tiere. Die für den weiteren Testosteronmetabolismus verantwortlichen Enzyme zeigen eine gesteigerte Aktivität, während Enzyme der Testosteronsynthese wie 3β-HSD, Isomerase und 17β-HSD relativ gehemmt sind (5o).

Gonadotropingabe beeinflußt die Enzymaktivität in Abhängigkeit vom Alter (35, 38, 4o, 7o, 72, 81). Die vorliegenden Ergebnisse lassen sich durch veränderte Enzymaktivitäten mit zunehmendem Alter, wie sie Inano et al. 1967 feststellten, erklären. Die 17β-HSD-Aktivität steigt erst allmählich bis zum 6o. Lebenstag an, alle übrigen Enzyme der Testosteronsynthese zeigen vermehrte Aktivität zwischen dem 2o. und 3o. Lebenstag und bleiben danach auf einem relativ konstant hohen Niveau (5o). Die nur langsame Steigerung der 17β-HSD-Aktivität mit zunehmendem Alter könnte erklären, weshalb junge Ratten nach HCG-Stimulation vermehrt Androstendion, alte Tiere dagegen vermehrt Testosteron bilden. Da junge Tiere im Gegensatz zu alten nur minimale 17β-HSD-Aktivitäten - verantwortlich für die Umwandlung von Androstendion in Testosteron - aufweisen und da die Zunahme der 17β-HSD-Aktivität im Hoden eher mit dem Hodenwachstum übereinstimmt als der plötzliche Anstieg der übrigen Enzymaktivitäten (5o), ist es vorstellbar, daß bei jungen Tieren das "unreife" 17β-HSD-System nicht in dem Maße auf Gonadotropine anspricht, wie dies z. B. bei sexuell reiferen Tieren der Fall ist. Folglich zeigen ältere Tiere vermehrte Testosteronsynthese, jüngere Tiere dagegen höhere Androstendionwerte.

Ähnliche Überlegungen könnten für den altersabhängigen Testosteronmetabolismus zutreffen. Die Aktivität der 5α-Reductase steigt zwischen dem 2o. und 3o. Lebenstag an und nimmt nach dem 4o. Tag relativ schnell wieder ab (5o). Da die 5α-Reductase zwischen dem 3o. und 5o. Lebenstag maximale Aktivität zeigt, ist verständlich, daß zu diesem Zeitpunkt der Testosteronmetabolismus hoch ist. Eine Stimulation sexuell reifer Ratten mit HCG führt folglich zu einer vermehrten Testosteronsynthese, nicht aber zu vermehrtem Metabolismus, wie bei unreifen Tieren mit hoher 5α-Reductase-Aktivität (3o, 35, 38, 71). Folman et al. zeigten 1973, daß präpubertäre Ratten im Hodeninterstitium eine 2ofach höhere Testosteronmetabolisierung aufweisen und daß die Fähigkeit, Testosteron zu metabolisieren im Interstitium mit dem Alter abnimmt, nicht dagegen in den Tubuli (55). Das mangelnde Ansprechen des Interstitiums auf hypophysäre Reize mit zunehmendem Alter kann man als Abnahme der Gonadotropin-Sensitivität des Interstitiums interpretieren.

Zusammenfassend kann man über die Pregnenolonconversion im Rattenhoden in Abhängigkeit vom Alter sagen:

Junge Tiere (2o-4o Tage alt) metabolisieren Pregnenolon bevorzugt zu 5α-reduzierten Testosteronmetaboliten. Hauptmetabolite waren Androstandiol, DHT und Androsteron. Daneben zeigen sie noch eine vermehrte Anhäufung von Testosteronvorläufern, vor allem Androstendion.

Reife Tiere wandeln Pregnenolon überwiegend in Testosteron um. Testosteronmetabolite wurden nur in geringer Konzentration vorgefunden. Testosteronvorläufer wie Androstendion nahmen nach dem 55. Lebenstag ebenfalls ab.

I b. Substratconversion im normalen und kryptorchen Rattenhoden

Vergleicht man die Bioconversion kryptorcher und normaler Ratten, so zeigen prä- und postpubertär kryptorche Tiere Abweichungen gegenüber Normaltieren:

1. Zwischenprodukte des Δ5-Wegs, 17-OH-Pregnenolon und DHA, sind ungefähr bis zum 3o. Tag nach Kryptorchismus gegenüber den Normalwerten erhöht. Beide Gruppen weisen zwischen dem 14. und 19. Tag des Versuchs einen Anstieg der 17-OH-Pregnenolon- und DHA-Werte auf, die über der Norm liegt. Danach ist die Bioconversion zu Δ5-Produkten geringer als die der Normaltiere . Das bedeutet, unabhängig vom Alter zeigt artifizieller Kryptorchismus denselben Effekt auf die Bioconversion zu 17-OH-Pregnenolon und DHA (Abbildung 24).

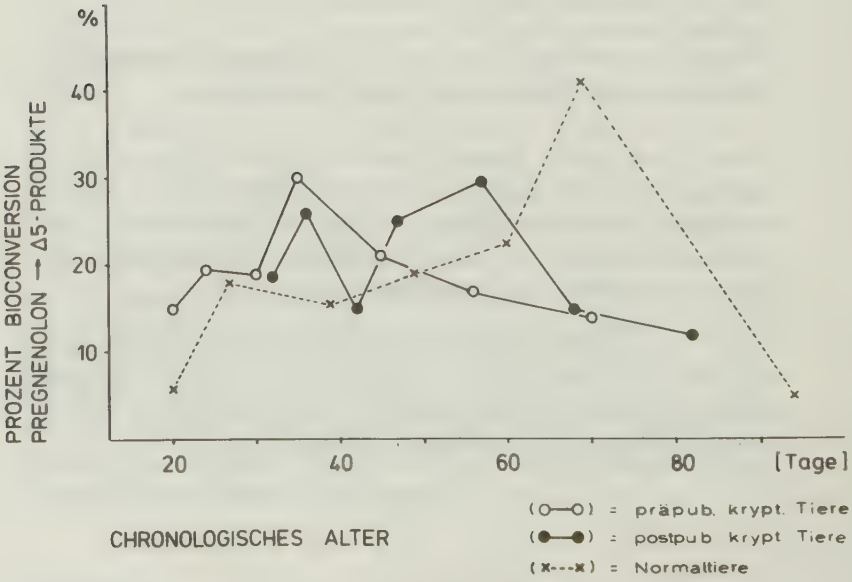


Abbildung 24 : Produkte des Δ5-Synthesewegs

2. Intermediärprodukte des Δ4-Wegs, Progesteron und 17-OH-Progesteron sind zwischen dem 4o. und 6o. Lebenstag niedriger als bei nicht kryptorchen Tieren, davor und danach gleich oder sogar höher (für postpubertäre Gruppe). Die Kurve der Δ4-Produkte verläuft also annähernd reziprok zur Kurve der Δ5-Produkte (Abbildung 24 und Abbildung 25).

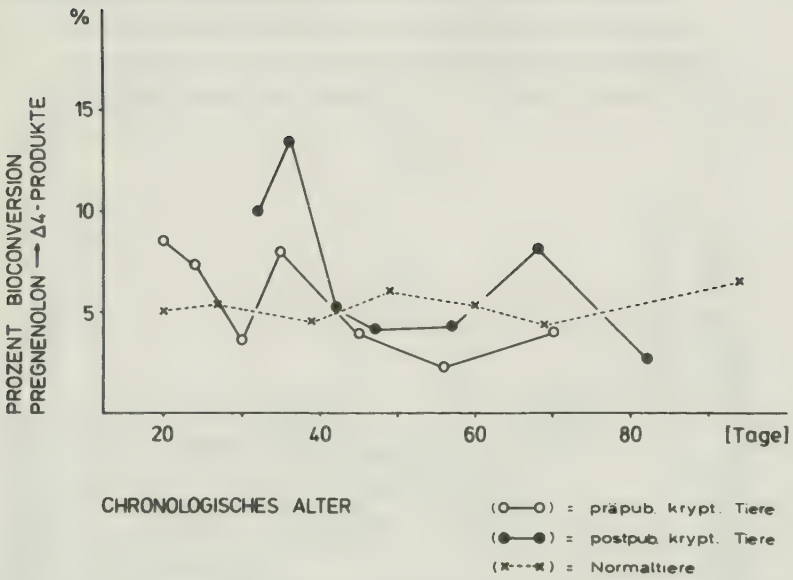


Abbildung 25 : Produkte des Δ4-Synthesewegs

3. Androstendion. Zwischen dem 35. und 6o. Lebenstag haben die kryptorchen Tiere auffälligerweise höhere Bioconversion zu Androstendion als Normaltiere, besonders ausgeprägt bei der präpubertär kryptorchen Gruppe (Abbildung 26). Zum einen zeigt sich hier die schon besprochene altersabhängige Reaktion: präpubertär kryptorche Tiere hatten durchweg höhere Androstendionwerte als postpubertär kryptorche. Zum anderen zeigt sich ein synchrones Verhalten auf künstlichen Kryptorchismus: die Androstendionwerte beider Gruppen steigen zwischen dem 19. und 29. Tag nach Versuchsbeginn auf Maximalwerte und erreichen danach wieder das Niveau der Normaltiere.

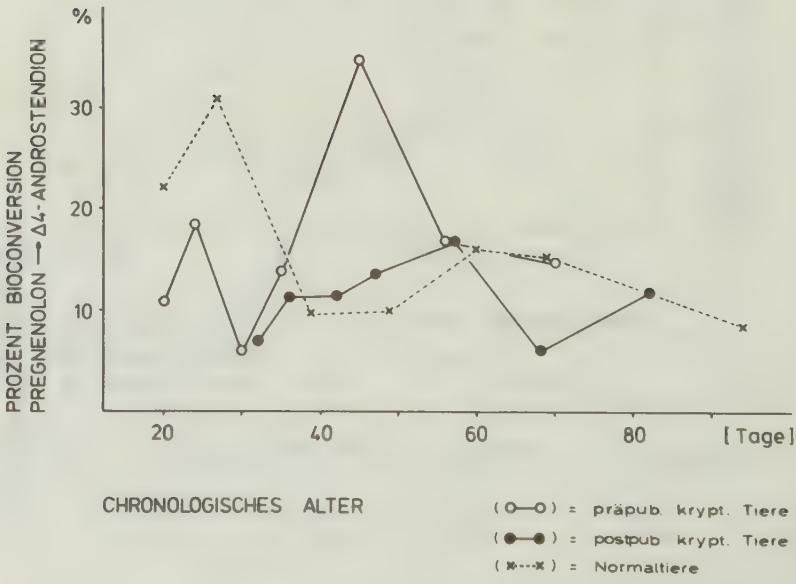


Abbildung 26 : Androstendion

4. Testosteron wurde auch von den kryptorchen Tieren mit zunehmendem Alter vermehrt gebildet, allerdings mit deutlichen Abweichungen zu den Werten normaler Ratten. Zwischen dem 27. und 65. Lebenstag waren die Testosteronwerte der kryptorchen Tiere niedriger, nach dem 65. Tag deutlich höher als die Werte nicht kryptorcher Tiere. Für beide Tiergruppen war die Differenz der Testosteronwerte zwischen kryptorchen und normalen Tieren 29 Tage nach Kryptorchismusbeginn am größten, und zwischen dem 29. und 4o. Tag des Versuchs erfolgte ein steiler Testosteronanstieg (Abbildung 27).

Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit den LH-Werten der Tiere: zwischen dem 29. und 4o. Tag nach Beginn des Kryptorchismus stiegen die LH-Werte beider Gruppen ebenfalls stark an (Abbildung 31).

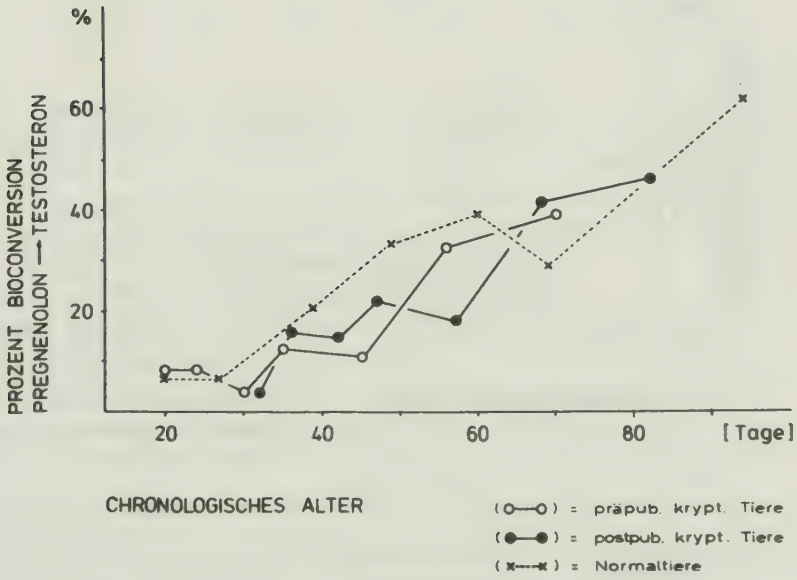


Abbildung 27 : Testosteron

5. Die kryptorchen Tiere metabolisierten wesentlich weniger Testosteron auf dem 17-Keto-Weg als die Normaltiere. Während Androstandion nur in Spuren nachgewiesen wurde, nahm die Bioconversion zu Androsteron mit zunehmender Reife der Tiere ab.
Abbildung 28 zeigt die Werte der 17-Keto-Metabolite (Androstandion und Androsteron) für Normaltiere sowie für prä- und postpubertär kryptorche Tiere.

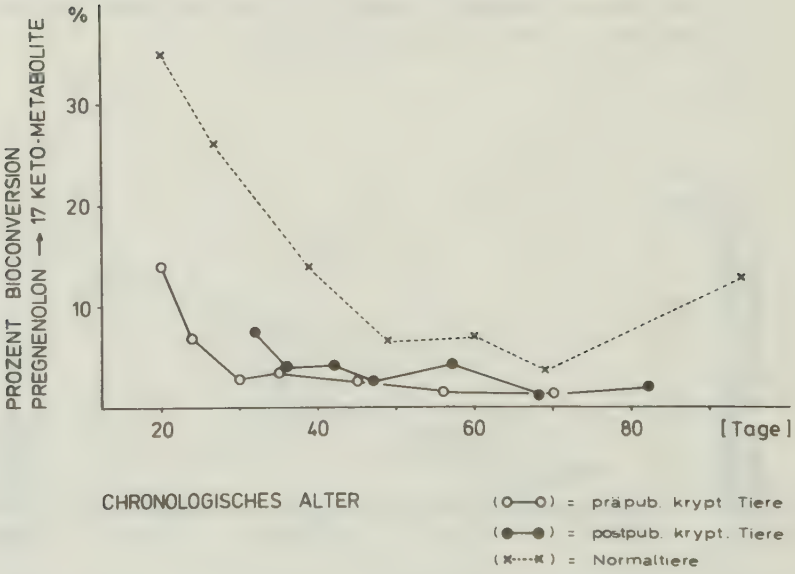


Abbildung 28 : 17-Keto-Metabolite
(Androstandion + Androsteron)

6. Der 17β-Hydroxylweg war für die kryptorchen Tiere bevorzugter Metabolisierungsweg für Testosteron. Beide Produkte, DHT und Androstandiol, zeigten große Unterschiede zwischen kryptorchen und normalen Tieren.

Vor dem 35. Lebenstag waren die Werte der 17β-Hydroxyl-Metabolite der kryptorchen Tiere wesentlich höher als die nicht kryptorcher Tiere. Zwischen dem 35. und 7o. Lebenstag lagen die Werte eher niedriger als bei Normaltieren (Abbildung 29 und Abbildung 3o).

Zwei Punkte stechen bei den 17β-Hydroxyl-Metaboliten besonders hervor. Man findet zum einen eine offensichtlich altersabhängige Reaktion der Tierhoden zwischen dem 3o. und 35. Lebenstag, ausgedrückt in einem plötzlichen Abfall sowohl der DHT- als auch der Androstandiolwerte der kryptorchen Tiere.

Zum anderen zeigt sich eine Kryptorchismus-abhängige Reaktion der Hoden mit einem Maximum der Bioconversion zu DHT und vor allem zu Androstandiol 14 Tage nach Beginn des Kryptorchismus. Zwischen dem 14. und 19. postoperativen Tag folgte ein Abfall der DHT- und Androstandiolwerte (Abbildung 29 und 3o).

Auffälligerweise steigen die LH-Werte der kryptorchen Tiere zwischen dem 14. und 19. Tag nach Kryptorchismusbeginn extrem an, zeitlich übereinstimmend mit dem Abfall der 17β-Hydroxyl-Produkte (Abbildung 31).

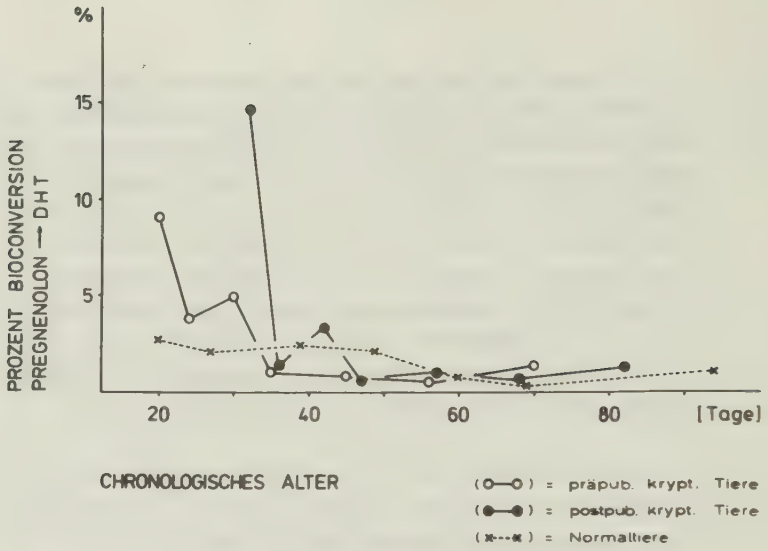


Abbildung 29 : Dihydrotestosteron

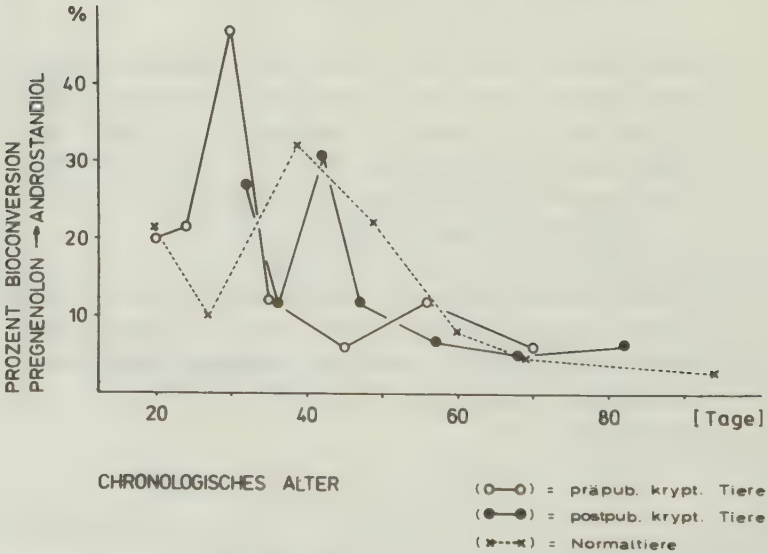


Abbildung 3o : Androstandiol

Aus den Punkten 1 - 4, eine erhöhte Δ5-Produktion, verminderte Δ4-Produktion, erhöhte Androstendionwerte und verminderte Testosteronwerte kryptorcher Tiere während eines großen Abschnitts des Versuchs, kann man folgenden Schluß ziehen: erhöhte Androstendionwerte bei gleichzeitig verminderter Testosteronproduktion sind Hinweis für verminderte Aktivität der 17β-HSD, erhöhte Δ5-Zwischenprodukte und gleichzeitig verminderte Δ4-Produkte Folge einer herabgesetzten Aktivität der 3β-HSD sowie der Δ4-Δ5-Isomerase.

Diese Schlußfolgerung wurde durch Ergebnisse mehrerer Autoren gestützt. Kormano et al. fanden 1964 bei kryptorchen Ratten zwischen dem 4. und 32. Tag nach Kryptorchismus eine Abnahme der 3β-HSD-Aktivität, Inano et al. 1968 eine 4o %ige Abnahme der 3β-HSD-Aktivität am 31. Tag nach Beginn des Kryptorchismus (49, 55). Gleichzeitig war eine vermehrte Aktivität der 17α-Hydroxylase, der C17-C2o-Lyase und der 17β-HSD nachgewiesen worden.

Über die Veränderungen der 17β-HSD-Aktivität bei Kryptorchismus bestehen unterschiedliche Meinungen. Während Inano et al. 1968 fanden, daß bei 31 Tage kryptorchen Tieren eine erhöhte Aktivität vorlag, stellten Samuels et al. 1968 bei kryptorchen Mäusen eine deutliche Hemmung der 17β-HSD fest (49). Dies bestätigten auch Bedrak et al. 1973 an kryptorchen sowie an hitzeexponierten Ratten: eine relative Hemmung der 17β-HSD bei allgemein erhöhten Enzymaktivitäten (4).

Berücksichtigt man die altersabhängigen Veränderungen der Enzymaktivitäten, können diese widersprüchlichen Ergebnisse jedoch in Einklang gebracht werden. Die Werte für Androstendion steigen zwischen dem 19. und 29. Tag des

Kryptorchismus steil an (Punkt 3), als Zeichen einer verminderten 17β-HSD-Aktivität (4). Der Abfall der Androstendionwerte zwischen dem 29. und 4o. Tag nach Versuchsbeginn ist Ausdruck einer erhöhten Aktivität der 17β-HSD, wie Inano et al. sie 1968 annahmen (49). In Abhängigkeit vom Alter der Versuchstiere treten also unterschiedliche Veränderungen der Enzymaktivität nach künstlichem Kryptorchismus auf.

Testosteronwerte können sowohl von einer veränderten Testosteronsyntheserate als auch von verändertem Metabolismus beeinflußt werden. Daß die verminderten Testosteronwerte bei kryptorchen Tieren (Punkt 4) nicht allein auf einer vermehrten Metabolisierung beruhen, wie Stylianou et al. 1961 annahmen (91), wird klar, wenn man die nach dem 35. Lebenstag verminderten Testosteronmetabolite mit den bis zum 65. Lebenstag gleichzeitig verminderten Testosteronwerten beachtet (Abbildung 27, 29 und 3o).

Die zuvor vermutete Hemmung der 17β-HSD zwischen dem 19. und 29. Tag sowie die erhöhte 17β-HSD-Aktivität zwischen dem 29. und 4o. Tag nach Kryptorchismusbeginn lassen sich ebenfalls aus den Veränderungen der Testosteronwerte zu dieser Zeit ableiten: am 29. Tag nach Beginn des Kryptorchismus war die Differenz der Testosteronwerte zwischen kryptorchen und normalen Tieren am größten. Weiterer Hinweis einer Hemmung der 17β-HSD zu diesem Zeitpunkt waren die Maximalwerte für Androstendion der kryptorchen Tiere. Zwischen dem 29. und 4o. Tag des Kryptorchismus zeigten beide Tiergruppen den steilsten Anstieg der Testosteronwerte, korreliert mit erhöhter Aktivität der 17β-HSD und dem Abfall der Androstendionwerte.

Verblüffend ist auch die synchrone Veränderung der LH- und Testosteronwerte bei kryptorchen Tieren (Abbildung 27 und

Abbildung 31). Zwischen dem 14. und 19. Tag nach Beginn des künstlichen Kryptorchismus steigen Testosteron- und LH-Werte beider Gruppen. Zwischen dem 19. und 29. Tag sinken die LH-Werte, Testosteronwerte beider Gruppen zeigen einen gehemmten Anstieg oder fallen ebenfalls. Der zweite LH-Anstieg zwischen dem 29. und 4o. Tag postoperativ schließlich ist begleitet von dem steilsten Anstieg der Testosteronwerte sowohl bei präpubertär als auch bei postpubertär kryptorchen Tieren. Die erhöhten LH-Werte nach dem 4o. Tag des Kryptorchismus führen dazu, daß die Testosteronwerte der kryptorchen Tiere schließlich über denen der Normaltiere liegen.

Abbildung 31 zeigt die Serum FSH- und LH-Werte der prä- und postpubertär kryptorchen Ratten während der sexuellen Reifung. Gonadotropinwerte normaler Tiere lagen weit unter den FSH- und LH-Spiegel der kryptorchen Tiere (19).

Insbesondere die LH-Werte beider Tiergruppen zeigen gleichsinnige Veränderungen in Abhängigkeit von der Kryptorchismusdauer. Nach 14 Tagen Kryptorchismus steigen LH-Werte auf ein Maximum am 19. Tag an. Zwischen dem 19. und 29. Tag des Kryptorchismus fällt LH auf ein Minimum ab um schließlich nach dem 29. Tag wieder auf ein höheres Niveau anzusteigen.

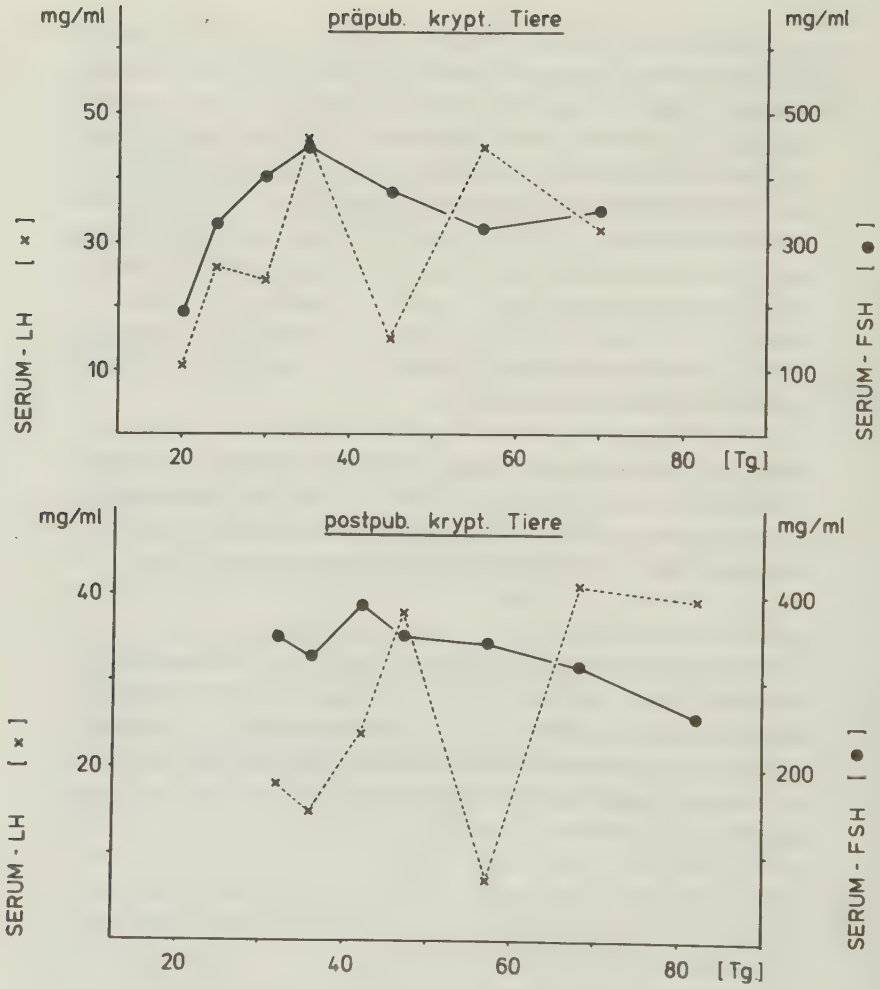


Abbildung 31 : Serum FSH- und LH-Werte prä- und postpubertär kryptorcher Ratten während der sexuellen Reifung (19).

Die unter Punkt 5 und 6 beschriebene Abnahme der anfangs hohen Testosteronmetaboliten mit zunehmender Reife läßt an eine gleichsinnige Veränderung der 5α-Reductase-Aktivität denken. Andere Autoren bestätigen diese Vermutung (23, 24, 3o, 27, 48, 5o, 66, 71).

Der 17-Keto-Metabolismus für Testosteron spielt, verglichen mit dem Metabolismus auf dem 17β-Hydroxylweg, eine geringere Rolle (Punkt 5). Nur Androsteron ist bei jungen Tieren stärker am Testosteronmetabolismus beteiligt. Ähnliche Ergebnisse hatten Stylianou et al. 1961, Nayfeh et al. 1966, Inano et al. 1967 und andere mehr (5o, 66, 91). Daß Androstandion kaum nachweisbar war, mag daran liegen, daß es bei der relativ langen Inkubationsdauer vollständig zu Androsteron umgesetzt wurde.

Die erniedrigten 17-Keto-Metabolite kryptorcher Tiere könnten zwei Ursachen haben. Zum einen war die chromatografische Auftrennung von Androsteron und Pregnenolon nicht immer optimal (Abbildung 5), so daß erhöhte Normalwerte auf Verunreinigungen mit Pregnenolon zurückzuführen wären. Die Anfangs niedrigen Pregnenolon- und gleichzeitig hohen Androsteronwerte lassen dies vermuten.

Zum anderen ist es denkbar, daß der Testosteronmetabolismus reifer kryptorcher Tiere abnimmt, trotz erhöhter Gonadotropinspiegel. Dafür sprechen die ebenfalls nach dem 35. Lebenstag verminderten 17β-Hydroxyl-Produkte kryptorcher Tiere.

Weit bedeutender für den Testosteronmetabolismus war der 17β-Hydroxylweg (Punkt 6). Beide 17β-Hydroxyl-Metabolite verhalten sich identisch: Anstieg zwischen dem 4. und 8. Tag nach Kryptorchismus zu einem Maximum, danach Abfall der Werte zwischen dem 14. und 19. postoperativen Tag.

Auch hier ist die Korrelation zu LH-Werten der kryptorchen Tiere deutlich. LH steigt zu dem Zeitpunkt an, wo die 5α-reduzierten Substanzen abnehmen. Es besteht also eine inverse Beziehung zwischen LH und Testosteronmetaboliten zumindest bis zum 35. Lebenstag der Tiere.

Jüngere Tiere beider Gruppen zeigten anfangs relativ hohe DHT-Werte. Die altersabhängige DHT-Synthese im Rattenhoden stimmt mit Arbeiten von Bedrak et al. 1973 überein, ebenso mit Plasma DHT-Werten von Gupta et al. 1975 mit niedrigeren Werten für kryptorche Tiere nach dem 35. Lebenstag (4, 36, 39). Androstandiol war Hauptmetabolit des Testosteron bei beiden Tiergruppen. Die Dominanz von Androstandiol im Testosteronmetabolismus normaler Ratten bestätigen andere Autoren (5o, 66, 91). Eine Abnahme der Androstandiolwerte bei kryptorchen Tieren nach dem 35. Lebenstag fanden auch Rager et al. 1974. Nach dem 35. Lebenstag waren die Androstandiolwerte kryptorcher Ratten niedriger als die nicht kryptorcher Tiere (71).

Ein inverses Verhältnis zwischen Androstandiol und Testosteron wurde bereits früher beschrieben. Junge Tiere zeigen hohe Androstandiol- und niedrige Testosteronwerte, reife Tiere niedrige Androstandiol- und hohe Testosteronwerte (16, 24, 66, 71). Inano et al. betonten 1967 die Bedeutung der 5α-Reductase im Zusammenhang mit der pubertären Reifung und vermuteten, daß hohe 5α-Reductase-Aktivität die Testosteronsynthese verhindert und dadurch die Tiere in einem präpubertären Stadium hält (51, 66).

Einen androgenen Effekt von Testosteronmetaboliten auf die Hypophyse wiesen Nayfeh et al. 1966 für Androstandiol sowie Naftolin et al. 1972 für DHT nach. Inzwischen vermuten mehrere Autoren, daß neben oder sogar noch vor Testosteron, dessen Metabolite Androstandiol und DHT im Gonaden-Hypothalamus-Hypophysen-System eine bedeutende Rolle zukommen (71,

72, 99). Nach Annahmen anderer Forscher könnten Testosteronmetaboliten, vor allem Androstandiol und DHT, im Hoden selbst androgene Wirkung entfalten. Da unreife Ratten im Interstitium eine erheblich höhere 5α-Reductase-Aktivität aufweisen als reife Tiere, könnten DHT oder Androstandiol zur Reifung des pubertären Hodengewebes unerläßlich sein (26).

Die hier vorgefunden Werte lassen in der Tat derartige Überlegungen zu. Höhere Gonadotropinwerte der kryptorchen Tiere, Ausdruck einer Schädigung des Hodengewebes, stimulieren die Aktivität der 5α-Reductase der jungen Hoden (48). Dies wird deutlich an einem Anstieg der Androstandiolwerte nach 8 Tagen Kryptorchismus. Der nachfolgende Abfall der DHT- und Androstandiolwerte am 14. Tag des Versuchs kann man so erklären, daß die Degeneration der Tubuli zwischen dem 15. und 16. Tag nach Kryptorchismusbeginn am stärksten ausgeprägt sind (13, 14, 15, 55, 61). Zusätzlich nimmt die Aktivität der 5α-Reductase im Interstitium mit zunehmender Reife der Tiere ab (4). Nach dem 14. Tag des Kryptorchismus steigen die LH-Werte an, während die Werte für DHT und Androstandiol abfallen, d.h. ein fehlendes negatives feedback des Hodens (niedrige DHT- und Androstandiolwerte) führt zu vermehrter Sekretion von LH.

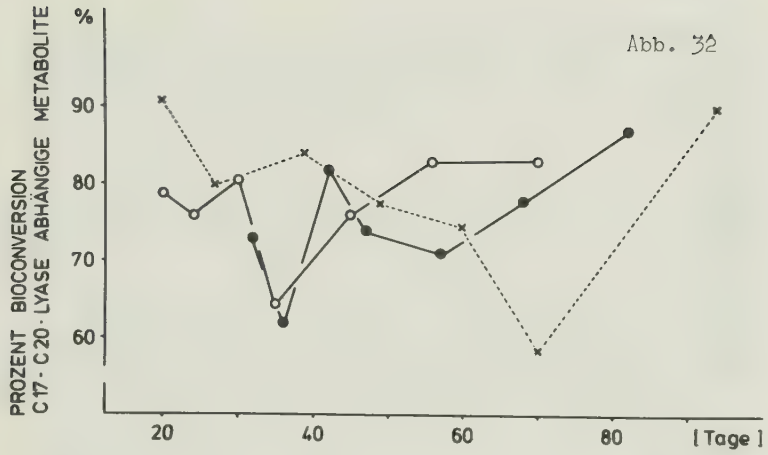
Daß eine erneute Stimulation des Hoden durch LH zwischen dem 29. und 4o. Tag nach Kryptorchismus ohne Einfluß auf die Testosteronmetabolite bleibt, ist einerseits durch die Abnahme der 5α-Reductase-Aktivität nach dem 4o. Lebenstag, andererseits durch die Hitzeschädigung des Hodengewebes infolge seiner anormalen Lage zu erklären (49, 5o).

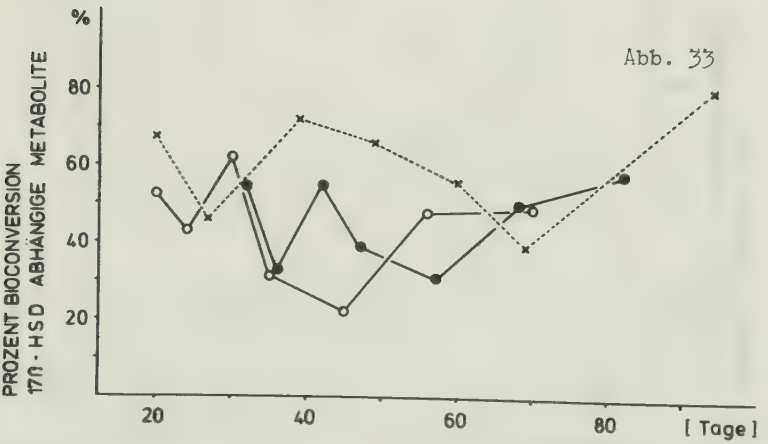
Inano und Tamaoki untersuchten 1967 den Einfluß des Alters auf Enzyme des Hodengewebes bei Ratten (5o). Um zu sehen, welchen Einfluß künstlicher Kryptorchismus auf die Enzyme des Hoden ausübt, wurde versucht, die Aktivität einzelner Enzyme zu bestimmen. Ausgedrückt wurde die Enzymaktivität als die Summe aller durch das Enzym umgesetzten Steroide.

Die errechneten Werte geben nur annähernd die tatsächlichen Enzymveränderungen wieder, da nicht für alle Enzyme von einem gesättigtem Substratangebot ausgegangen werden kann. Berücksichtigt man jedoch die Höhe des Substratumsatzes bei vorangegangenen Syntheseschritten, kann man Rückschlüsse auf veränderte Enzymaktivitäten bei Kryptorchismus ziehen.

In Abbildung 32 bis Abbildung 35 sind die Resultate der Berechnung von Enzymaktivitäten einzelner Enzyme dargestellt. Die eingezeichneten Werte sind Prozentangaben und geben die Summe aller durch das Enzym convergierten Steroide an. Als 1oo % wurde die Summe aller Substratmetabolite genommen, die während einer 2 stündigen Inkubation aus H3-Pregnenolon gebildet wurden. Die Werte für Normaltiere sowie für prä- und postpubertär kryptorche Tiere sind eingezeichnet.

Der Effekt des Kryptorchismus auf die Enzymmuster beider Gruppen ist größtenteils identisch. Quantitative Unterschiede zwischen prä- und postpubertär kryptorchen Tieren werden im Abschnitt I c erörtert. Nachfolgend sollen die Ergebnisse der Abbildungen 32 - 35 interpretiert werden.





CHRONOLOGISCHES ALTER

(o—o) = präpub. krypt. Tiere
(●—●) = postpub. krypt. Tiere
(×---×) = Normaltiere

Abbildung 32 + 33: Konzentration der C17,2o-Lyase- und der 17β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase-abhängigen Metabolite ausgedrückt in Prozent Bioconversion von H3-Pregnenolon.

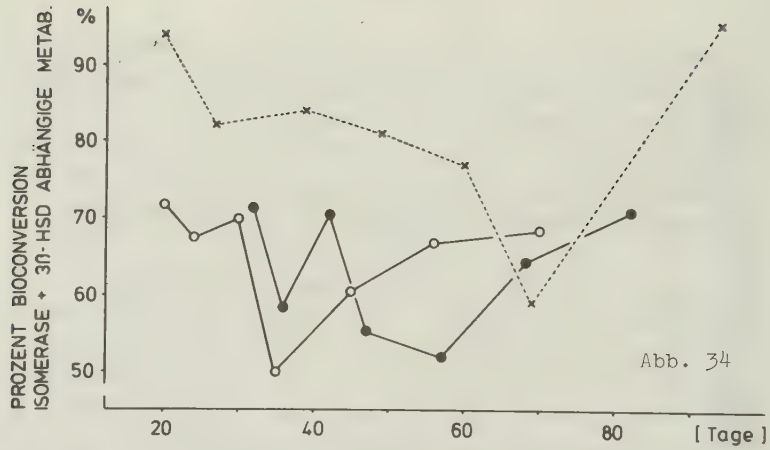


Abb. 34

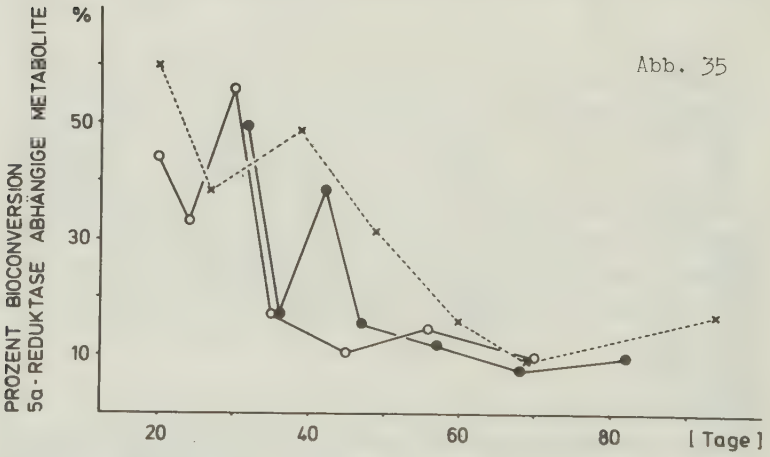


Abb. 35

CHRONOLOGISCHES ALTER

(O—O) = präpub. krypt. Tiere
(●—●) = postpub. krypt. Tiere
(✕----✕) = Normaltiere

Abbildung 34 + 35: Konzentration der Isomerase/3β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase- sowie der 5α-Reduktase-abhängigen Metabolite ausgedrückt in Prozent Bioconversion von Pregnenolon.

Die 17α-Hydroxylase-Aktivität war aufgrund der umgesetzten Steroidmengen weder altersabhängig noch zeigten sich Differenzen zwischen normalen und kryptorchen Hoden. Gleiches fand Inano et al. 1968 (49).

Wichtigste Veränderungen des Enzymmusters nach künstlichem Kryptorchismus waren:

1. verminderte Werte der durch die C17-C2o-Lyase umgesetzten Produkte bis zum 3o. Tag nach Beginn des Kryptorchismus, danach erhöhte Werte. Daraus könnte man eine verminderte Aktivität der Lyase vor dem 3o. postoperativen Tag sowie eine vermehrte Aktivität danach vermuten (Abbildung 32).
   Da die 17α-Hydroxylase nicht verändert ist und bei kryptorchen und normalen Hoden gleich war, hat sich das Substratangebot für die Lyase nicht vermindert. Ein Hinweis für vermehrte Lyase-Aktivität nach dem 3o. Tag des Kryptorchismus sind verminderte 17-OH-progesteron- sowie vermehrte Androstendionwerte zu diesem Zeitpunkt.

2. stark verminderte Mengen der durch die 17β-HSD umgesetzten Steroide zwischen dem 3o. und 65. Lebenstag lassen an verminderte Aktivität des Enzyms denken (Abbildung 33). Deutliche Anhäufung von Androstendion bei kryptorchen Hoden spricht dafür, genauso wie die verminderte Testosteronsynthese der Tiere zu dieser Zeit.

3. Stark vermindert waren ebenfalls die Werte der kryptorchen Tiere für die 3β-HSD und Isomerase abhängigen Substanzen, als Ausdruck einer verminderten Aktivität dieser Enzyme (Abbildung 34). Produkte des Δ5-Wegs waren bei kryptorchen Tieren stets höhere als Δ4-Produkte.

Die Aktivität der 3β-HSD und der Isomerase schien von Beginn des Kryptorchismus bis zum 65. Lebenstag stark vermindert, wie aus Abbildung 34 ersichtlich.

4. 5α-reduzierte Produkte waren zwischen dem 25. und 32. Lebenstag bei kryptorchen Hoden erhöht, danach vermindert. Die Aktivität der 5α-Reductase könnte sich entsprechend verändert haben (Abbildung 35). Andererseits könnte dies primär Folge eines veränderten Substratangebots bedingt durch geänderte 17β-HSD-Aktivität sein, da beide Enzyme sehr ähnliche Substratumsätze zeigen.

Diese Veränderungen des Enzymmusters kryptorcher Hoden stimmen mit den Ergebnissen anderer Veröffentlichungen überein (4, 49, 55, 71).

In Abhängigkeit von der Kryptorchismusdauer zeigen sämtliche Enzyme einen verblüffend einheitlichen Verlauf: Anstieg der Aktivität zwischen dem 8. und 14. Tag nach Beginn des Kryptorchismus, Abfall zwischen dem 14. und 19. postoperativen Tag mit einem Tief der Aktivität zwischen dem 19. und 29. Tag des Kryptorchismus und eine langsame "Regeneration" der Enzymaktivität auf Werte identisch mit normalen Hoden.

Der Anstieg der Enzymaktivitäten zu Beginn der Pubertät ist auch bei den Enzymen der Normaltiere erkennbar (25.-4o. Lebenstag), allerdings ist dieser nicht so stark wie bei kryptorchen Tieren. Gupta et al. zeigten 1975 einen initialen Testosteronanstieg im Serum normaler Ratten zwischen dem 27. und 28. Tag (37, 39). Ebenso fanden Gupta et al. 1974 sowie Eichner et al. 1975 bei den hier untersuchten Normaltieren einen FSH- und LH-Anstieg zu einem Maximum am 35. Lebenstag (19, 2o, 29).

Eine Deutung für die plötzlich vermehrte Enzymaktivität kryptorcher Tiere zwischen dem 8. und 14. Tag nach Beginn des Kryptorchismus wäre in einer Reaktion der Enzymsysteme auf die stark erhöhten LH- und FSH-Werte der kryptorchen Tiere zu sehen.

Die Abnahme der Enzymaktivitäten zwischen dem 14. und 19. Tag des Kryptorchismus könnten ihre Ursache in einer maximalen Schädigung des Hodengewebes durch die erhöhte Umgebungstemperatur zu diesem Zeitpunkt haben. Parallel zur Abnahme der Enzymaktivität steigen die LH-Werte zu einem Maximum am 19. Tag nach Kryptorchismus an. Die minimalen Enzymaktivitäten zwischen dem 19. und 29. Tag des Versuchs sowie die extrem hohen LH-Werte am 19. Tag zeigen, daß der gonadale-hypophysäre-feedback Mechanismus gestört ist. Höchste Gonadotropinspiegel im Serum sind nicht in der Lage, die Enzymaktivität zu steigern.

Mit Ausnahme der 5α-Reductase, die normal mit zunehmender Reife inaktiver wird (24, 5o, 66), steigen die Enzymaktivitäten nach dem 29. Tag des Kryptorchismus wieder und erreichen zwischen dem 7o. und 8o. Lebenstag die Werte der Normaltiere (Abbildungen 32-35). Testosteronwerte der kryptorchen Tiere sind zu diesem Zeitpunkt sogar höher als die nicht kryptorcher Tiere.

Regeneration kryptorchen Hodengewebes aufgrund erhöhter Gonadotropinspiegel vermutete bereits Moore 1945 bei Langzeitkryptorchismus (61). Clegg 1963 berichtete über teilweise Regeneration des Hodengewebes nach dem 35. Tag. Allerdings betrafen diese Untersuchungen vorwiegend Tubuli und nicht das Interstitium (15). Clegg zeigte ebenfalls initial eine Abnahme der Hormonsynthese bei Kryptorchismus zwischen dem 8. und 16. Tag des Versuchs. Danach erfolgte vermehrte Hormonproduktion. Clegg nahm an, daß der

primäre Effekt des Kryptorchismus eine funtionell verminderte Aktivität der Leydigzellen ist, bedingt durch die lokale Hitze. Daraufhin gesteigerte Gonadotropinsekretion vermag weitere Schäden der Spermatogenese und der Androgensynthese zu verhindern oder sogar eine normale Funktion herbeizuführen (14). Clegg wies weiter nach, daß 21 Tage nach Kryptorchismus die Zahl der Leydigzellen um 5o % zunimmt. Es handelt sich vorwiegend um junge Zellen, vermutlich aus mesenchymalem Gewebe, da keine Mitosen im Interstitium nachzuweisen waren. Diese "jungen" Leydigzellen stellen die aktivere Form der Interstitialzellen in der Androgensynthese dar (14, 15).

Neben den Veränderungen des Enzymmusters in Abhängigkeit von der Dauer des Kryptorchismus, scheint es zusätzlich eine altersabhängige Komponente in der Bioconversion bei kryptorchen Tieren zu geben, die unabhängig von Kryptorchismusdauer zwischen dem 3o. und 35. Lebenstag erkennbar ist. Während die Enzymaktivitäten der Normaltiere zwischen dem 25. und 4o. Lebenstag ansteigen, zeigen sämtliche Enzyme der kryptorchen Tiere rasche Verminderung der Aktivität zwischen dem 3o. und 35. Lebenstag. Davon sind beide Gruppen, die präpubertär und die postpubertär kryptorchen, Tiere gleich betroffen.

Entsprechend verändern sich die Bioconversionsmuster beider Gruppen synchron: Anstieg der Δ5-Zwischenprodukte, Anstieg der Δ4-Zwischenprodukte, Anstieg der Androstendionwerte, Anstieg der Testosteronwerte, Abfall der DHT- und Abfall der Androstandiolwerte. LH- oder FSH-Werte wiesen keine entsprechenden Veränderungen auf.

Über die Substratconversion artifiziell kryptorcher Rattenhoden kann man zusammenfassend sagen:

Der Effekt des künstlichen Kryptorchismus auf die Bioconversion von Pregnenolon im Rattenhoden zeichnet sich aus durch altersabhängige Veränderungen der Androgensynthese.

Erhöhte Androstendionwerte, verminderte Testosteronwerte sowie präpubertär erhöhte Androstandiolwerte sind typische Merkmale der Bioconversion kryptorcher Rattenhoden.

Veränderungen der Bioconversion durch artifiziell erzeugten Kryptorchismus am Rattenhoden sind reversibel. Eine Tendenz zur Regeneration der gestörten Androgensynthese zeigt sich 3o Tage nach Beginn des Kryptorchismus.

I c. Substratconversion im prä- und postpubertär kryptorchen Rattenhoden

Beim Vergleich der Bioconversion prä- und postpubertär kryptorcher Rattenhoden fiel auf, daß größtenteils dieselbe Reaktionen auf künstlichen Kryptorchismus erfolgten. Divergierende Punkte der Bioconversion beider Altersgruppen sollen nachfolgend besprochen werden.

1. Zwischen dem 45. und 7o. Lebenstag wiesen postpubertär kryptorche Tiere eine stärkere Anhäufung sowohl von Δ4- als auch von Δ5-Zwischenprodukten auf. Die in Abbildung 36 eingezeichneten Werte zeigen jeweils die Summe der Δ4- und Δ5-Produkte (17-OH-Pregnenolon, DHA, Δ5-Androstendiol, Progesteron und 17-OH-Progesteron) ausgedrückt in Prozent Bioconversion.

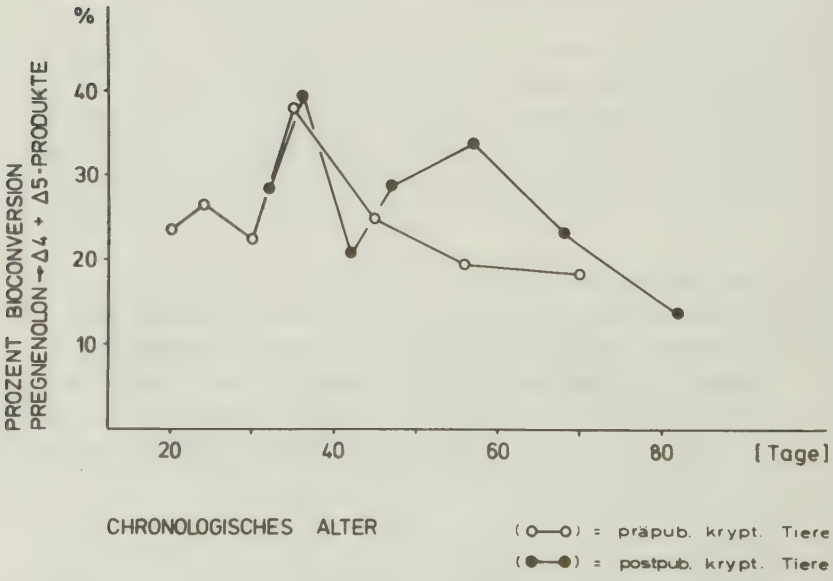


Abbildung 36 : Δ4- und Δ5-Zwischenprodukte der Testosteronsynthese

2. Für Androstendion gelten umgekehrte Verhältnisse als für dessen Vorläufer auf dem Δ4- und Δ5-Syntheseweg. Zwischen dem 35. und 7o. Lebenstag hatten präpubertär kryptorche Tiere stets höhere Androstendionwerte als postpubertär kryptorche Tiere.

   Abbildung 37 zeigt die Androstendionwerte der präund postpubertär kryptorchen Tiere mit zunehmendem Alter.

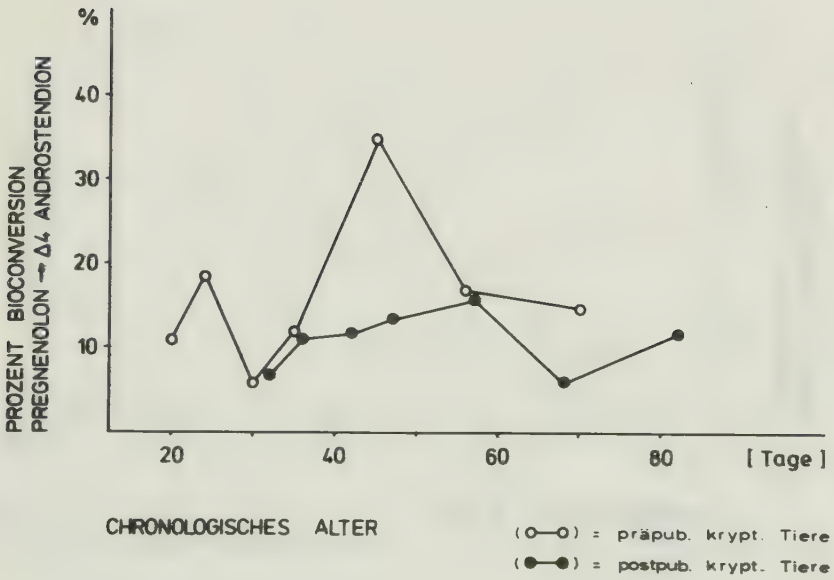


Abbildung 37 : Δ4-Androstendion

3. In Abhängigkeit von der Dauer des Kryptorchismus verlaufen die Kurven für Testosteron für beide Gruppen gleich, mit einem Anstieg der Werte zwischen dem 29. und 4o. Tag nach Beginn des Kryptorchismus. Die postpubertär kryptorche Tiergruppe wies nach dem 7o. Lebenstag höhere Testosteronwerte auf als die präpubertär kryptorche Gruppe (Abbildung 38).

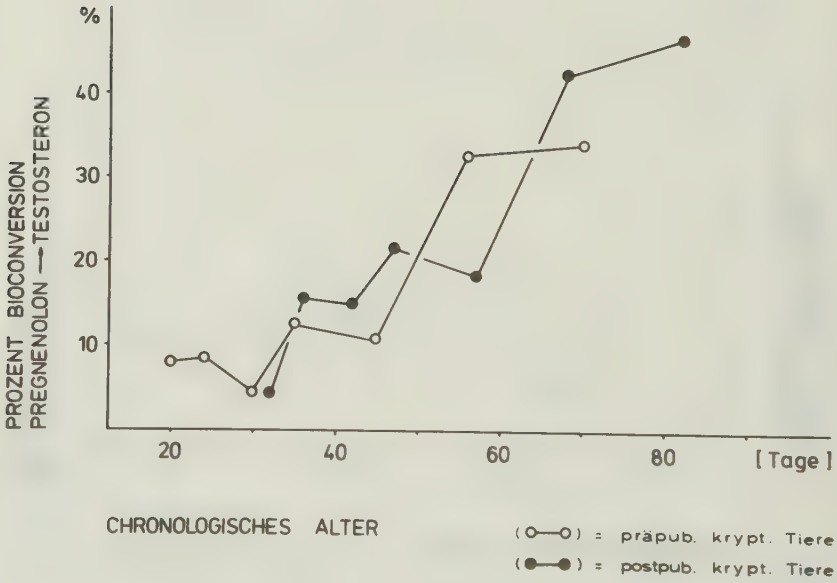


Abbildung 38 : Testosteron

4. Besondere Bedeutung fand bei vielen Autoren die Relation der Bioconversionswerte von Androstendion zu Testosteron in Abhängigkeit vom Alter (23, 24, 48, 66, 68). Hierin unterscheiden sich prä- und postpubertär kryptorche Tiere deutlich. Nach dem 35. Lebenstag liegt der Quotient Androstendion/Testosteron bei der postpubertären Gruppe stets unter 1, bei der präpubertären Gruppe fallen die Werte erst nach dem 55. Lebenstag unter 1 ab (Abbildung 39).

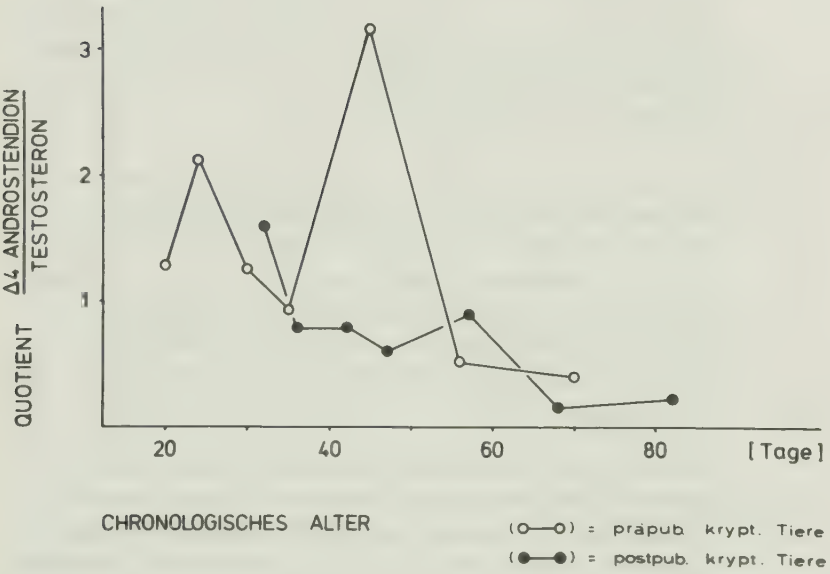


Abbildung 39 : Relation $\frac{\Delta 4\text{-Androstendion}}{\text{Testosteron}}$

5. Der Anteil der 17-Keto-Produkte (Androstandion und Androsteron) am Testosteronmetabolismus war bei beiden Gruppen gleich.

Hauptmetabolite von Testosteron waren die 17β-Hydroxyl-Produkte Androstandiol und DHT. Trotz gleicher Reaktion auf künstlichen Kryptorchismus - ein Maximum der 17β-Hydroxylwerte 14 Tage nach Beginn des Kryptorchismus - waren quantitative Unterschiede zwischen prä- und postpubertär kryptorchen Tieren erkennbar.

DHT, mit Maximalwerten 4 Tage nach Versuchsbeginn, fiel innerhalb von 2o Tagen auf Werte unter 1 % ab. Die postpubertäre Gruppe hatte immer höhere DHT-Werte als die präpubertär kryptorche. Größte Differenz der DHT-Werte beider Tiergruppen konnte am 3o. Lebenstag festgestellt werden (Abbildung 29).

Androstandiol war in den kryptorchen Hoden beider Gruppen Hauptmetabolit des Testosteron. Während bei den präpubertär kryptorchen Tieren bis zum 35. Lebenstag Androstandiol weit über den Werten nicht kryptorcher Tiere lag, war die Androstandiolproduktion der postpubertär kryptorchen Gruppe abgesehen vom 32. Lebenstag immer unter der normaler Tiere (Abbildung 3o)

Die zeitlich identischen Maxima der Androstandiolkurve 14 Tage nach Versuchsbeginn unterschieden sich in der Höhe der Werte. Androstandiolwerte der präpubertär kryptorchen Gruppe lagen zu diesem Zeitpunkt über 5o %, Werte der postpubertär kryptorchen Tiere nur um 3o % jedoch mit geringerer Abweichung zu Androstandiolwerten nicht kryptorcher Tiere.

6. Unterschiedlich schwere Veränderungen des Körper- bzw. Hodengewichts wurden sowohl beim Vergleich zu Normaltieren als auch beim Vergleich beider Gruppen untereinander sichtbar.

Das Körpergewicht der seit dem 16. Lebenstag kryptorchen Tiere war, verglichen mit dem der Normaltiere, stets höher. Die postpubertär kryptorchen Tiere wiesen keine größeren Abweichungen des Körpergewichts von den Normalwerten auf.

Größer waren die Differenzen beim Hodengewicht. Unabhängig von der Dauer des Kryptorchismus blieb das Hodengewicht beider Gruppen vom 45. Lebenstag an hinter dem Hodengewicht normaler Tiere zurück. Während bei der präpubertär kryptorchen Gruppe nach dem 45. Lebenstag das Hodengewicht noch leicht anstieg und am 7o. Lebenstag 69 % des Normalgewichts erreichte, fiel das Hodengewicht der postpubertär kryptorchen Tiere nach dem 6o. Lebenstag auf nur noch 35 % des Normalgewichts am 7o. Lebenstag ab.

Abbildung 4o zeigt das Körpergewicht, Abbildung 41 das Hodengewicht beider kryptorchen Tiergruppen. Die Werte normal entwickelter Tiere sind ebenfalls eingezeichnet.

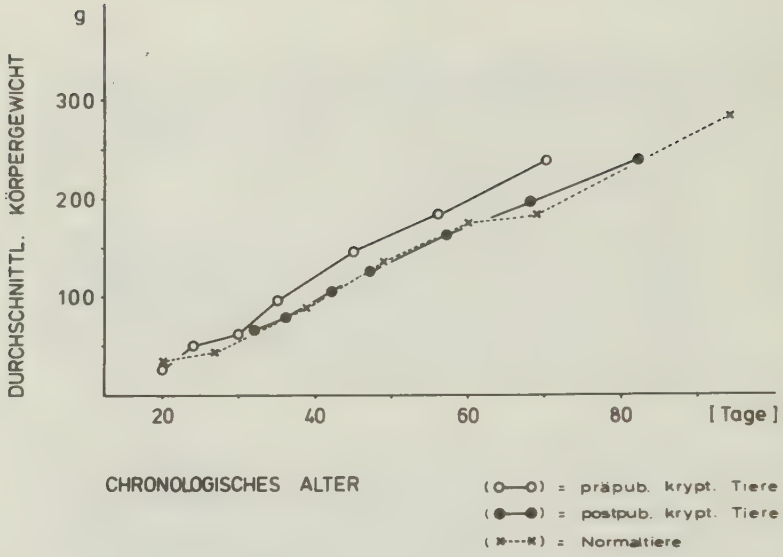


Abbildung 4o : Körpergewicht (g)

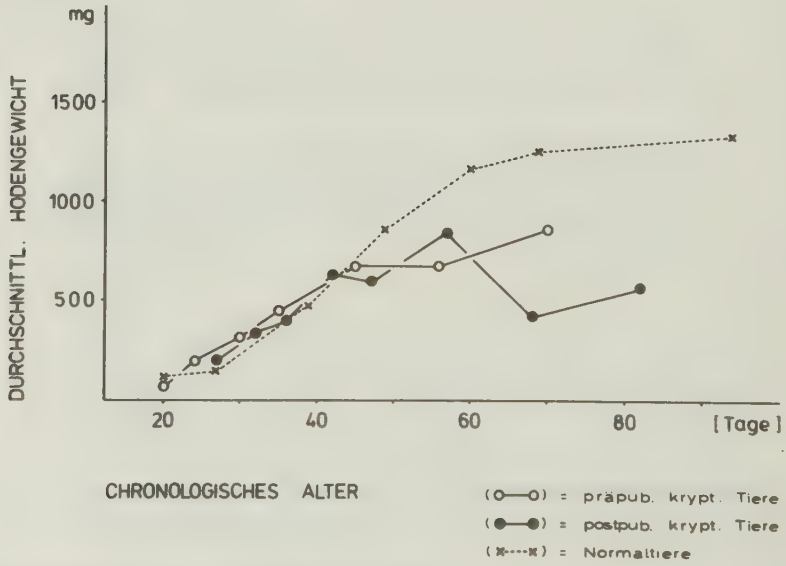


Abbildung 41 : Hodengewicht (mg)

Der Versuch, die unterschiedliche Bioconversion prä- und postpubertär kryptorcher Rattenhoden zu interpretieren, wird erschwert durch die altersbedingten Veränderungen des Enzymsystems (23, 24, 5o) sowie die gleichzeitig unterschiedlich schwere Schädigung des Hodengewebes verschieden alter Tiere.

Für präpubertär kryptorche Tiere ergibt sich aus den Punkten 1 bis 6 ein Bioconversionsmuster mit höheren Androstendion- sowie höheren Androstandiolwerten, jedoch niedrigeren Testosteronwerten als postpubertär kryptorche Tiere. Gleichzeitig waren die Veränderungen des Hodengewichts nicht so ausgeprägt wie bei der anderen Tiergruppe.

Dementsprechend war das Bioconversionsmuster postpubertär kryptorcher Rattenhoden gekennzeichnet durch hohe Werte für Testosteronvorläufer, höhere Testosteronwerte, verminderte Androstendion- und verminderte Androstandiolwerte, verglichen mit der präpubertären Gruppe.

Ähnliche Ergebnisse für Normaltiere (5o, 57, 75) und für kryptorche Ratten (71) liegen vor.

Die unter Punkt 1 besprochenen höheren Testosteronvorläufer auf dem $\Delta 4$- und $\Delta 5$-Weg für postpubertär kryptorche Tiere haben ihre Ursache in einer verminderten Aktivität der Isomerase, der 3β-HSD sowie der 17β-HSD zu diesem Zeitpunkt. Abbildung 33 und Abbildung 34 illustrieren diesen Sachverhalt. Während die präpubertäre Gruppe zwischen dem 45. und 7o. Lebenstag bereits Zeichen einer Regeneration der Steroidsynthese aufweisen, ist die Schädigung durch Kryptorchismus für die postpubertäre Gruppe zu diesem Zeitpunkt am stärksten ausgeprägt. Das stark verminderte Hodengewicht ist Ausdruck dieser Schädigung.

Am auffälligsten ist die Diskrepanz der Androstendionwerte beider Gruppen zwischen dem 35. und 7o. Lebenstag, wie in Punkt 2 aufgeführt. Beide Gruppen wiesen nach 29 Tagen Kryptorchismus maximale Werte auf. Jedoch waren die höchsten Androstendionwerte der präpubertär kryptorchen Gruppe doppelt so hoch wie die Maximalwerte der postpubertär kryptorchen Tiere.

Die wesentlich stärkere Hemmung der 17β-HSD sowie die etwas höhere Aktivität der Isomerase und 3β-HSD bei der präpubertären Tiergruppe (Abbildung 33 und Abbildung 34) ist eine mögliche Erklärung hierfür. Daß eine derartige Enzymveränderung als Folge des Kryptorchismus vorliegt, zeigen die erhöhten Androstendionwerte der kryptorchen Tiere, verglichen mit den Werten normaler Tiere. Eine Hemmung der 17β-HSD bei kryptorchen Mäusen fanden Samuels et al. 1968 sowie Bedrak et al. 1973 bei kryptorchen Ratten (4).

Punkt 3. Höhere Testosteronwerte der postpubertär kryptorchen Tiere gegen Ende des Versuchs fanden auch Rager et al. 1974 (71). Dies zu erklären fällt schwer, da weder die 17β-HSD- noch die 5α-Reductase-Aktivität zwischen beiden Gruppen variiert, ganz abgesehen von der stärkeren Gewichtsabnahme der postpubertär kryptorchen Hoden.

Mit dem Anstieg der Testosteronwerte geht ein steiler Anstieg der LH-Werte bei den postpubertär kryptorchen Tieren einher, während die präpubertäre Gruppe zu diesem Zeitpunkt bereits maximale LH-Werte aufweist. Der so stimulierte präpubertär kryptorche Hoden reagiert jedoch nicht mit einer erhöhten Testosteronsekretion. Versuche anderer Forscher stimmen damit überein: präpubertäre Tiere zeigten nach FSH-LH-Injektion kein Ansteigen des Testosterons im Gegensatz zu adulten Tieren (22, 38). Daraus kann man schließen, daß die Leydigzellen präpubertärer Hoden nicht in dem Maße auf LH reagieren wie die adulter.

Lindner et al 1960 demonstrierten erstmals, daß sich der Quotient Androstendion/Testosteron mit zunehmendem Alter verkleinert (57). Seitdem wurde dies von vielen Autoren bestätigt. Sie fanden für junge Tiere Androstendionwerte höher als Testosteronwerte und für adulte Tiere höhere Testosteron- als Androstendionwerte (23, 24, 48, 66, 68). Wie unter Punkt 4 gezeigt, sind auch hier die präpubertären Tiere stärker vom Kryptorchismus betroffen. Sie haben zwischen dem 35. und 55. Lebenstag einen 3fach höheren Quotienten als gleich alte postpubertär kryptorche Tiere. Arbeiten von Gupta et al. 1973 und Rager et al. 1974 stimmen darin überein (38, 71).

Verantwortlich für den höheren Quotienten ist zum einen die stark verminderte 17β-HSD-Aktivität der präpubertär kryptorchen Tiere mit hohen Androstendionwerten, zum anderen die stärker gehemmte 5α-Reductase-Aktivität mit niedrigeren Testosteronwerten zu diesem Zeitpunkt (Abbildung 33 und 35).

Ein weiterer Hinweis für die stärkere Störung der Androgensynthese präpubertärer Tiere durch künstlichen Kryptorchismus sind die niedrigeren Werte für Testosteronmetabolite dieser Tiere zwischen dem 35. und 5o. Lebenstag, wie in Punkt 5 besprochen. Nach anfänglich überschießendem Testosteronmetabolismus fallen die DHT- und Androstandiolwerte der präpubertär kryptorchen Tiere bis zum 35. Lebenstag weit unter die Werte normaler Tiere ab (26, 38, 71). Als Folge der höheren 5α-Reductase-Aktivität der postpubertären Gruppe (Abbildung 35) lagen deren DHT- und Androstandiolwerte zwischen dem 3o. und 5o. Lebenstag höher.

Dies zeigt, daß die präpubertär kryptorchen Tiere stärker als die postpubertären auf den Reiz des geänderten Milieus reagieren und daß die präpubertär kryptorchen Tiere nach dem 35. Lebenstag trotz erhöhter LH-Werte nicht mehr zu vermehrtem Testosteronmetabolismus fähig sind (Abb. 3o).

Das Hodengewicht präpubertär kryptorcher Tiere, mit stärker beeinflußter Androgensynthese, beträgt immer noch 69 % des Normalgewichts während postpubertär kryptorche Tiere, mit weniger gestörter Androgensynthese, nur 35 % des normalen Hodengewichts erreichen (Punkt 6).

Untersuchungen an bestrahlten Rattenhoden (38) sowie an Hoden hypophysektomierter Ratten (22) beweisen altersabhängig Beeinflussung des Hodengewichts durch Gonadotropine. Während präpubertäre, hypophysektomierte Tiere mit einer starken Zunahme des Hodengewichts nach Gonadotropingabe reagierten, war die Gonadotropinwirkung auf das Gewicht adulter Hoden gering. Gupta et al. zeigten 1973 bei bestrahlten präpubertären Rattenhoden eine Gewichtszunahme des Hoden um 1oo % nach HCG-Gabe, für adulte Tiere nur 34 %. Dabei blieb die Androgensynthese in beiden Tiergruppen unverändert.

Neben einer hochgradigen Degeneration der Tubuli 15 Tage nach Kryptorchismusbeginn (14, 15, 55, 61) reagiert das Interstitium auf Kryptorchismus mit einer Zunahme der Zahl der Leydigzellen ungefähr am 21. Tag nach Kryptorchismus (14). Diese Zunahme der Interstitialzellen - ohne Effekt auf die Steroidsynthese - erklärte Clegg 1961 durch eine erhöhte Gonadotropinsekretion in Folge mangelnder Androgensynthese des kryptorchen Hoden.

Daraus geht hervor, daß die präpubertären Tiere zwar mit einer Vermehrung der Leydigzellen, d. h. mit Zunahme des Hodengewichts, auf die hohen Gonadotropinspiegel reagieren, nicht aber mit einer entsprechenden Androgensynthese. Als Ursache für die mangelnde Androgensynthese derart stimulierter präpubertärer Hoden käme eine "Unreife" des Enzymsystems dieser Tiergruppe in Frage.

Zusammenfassend kann man über den Effekt des Alters auf die Bioconversion von Pregnenolon im künstlich kryptorchen Rattenhoden sagen:

Präpubertär kryptorche Tiere boten ein Bioconversionsmuster mit höheren Androstendion-, höheren Androstandiolsowie verminderten Testosteronwerten als bei postpubertär kryptorchen Hoden.

Die Bioconversion in postpubertär kryptorchen Rattenhoden ist gekennzeichnet durch eine hohe Ansammlung von Testosteronvorläufern, höhere Testosteronwerte und verminderte Androstendionwerte als in präpubertär kryptorchen Hoden.

Insgesamt reagierten präpubertäre Tiere auf artifiziellen Kryptorchismus mit stärkeren Veränderungen der Bioconversion als postpubertär kryptorche Tiere.

II a. Substratconversion im normalen und kryptorchen menschlichen Hoden in Abhängigkeit vom Alter

Veränderungen der Bioconversion im menschlichen Hodengewebe mit zunehmendem Alter wurde bereits mehrfach beschrieben:

Bloch 1964, ebenso Siitery et al. 1974 fanden, daß bereits fetale menschliche Hoden Testosteron produzieren, und daß diese Testosteronsynthese ihr Maximum zur Zeit der Differenzierung des Geschlechtsapparats erreicht (5, 6, 86). Axelrod stellte 1965 beim Vergleich der Bioconversion zwischen Hodengewebe eines 16 jährigen und eines 61 jährigen Patienten verminderte Testosteronsynthese im Alter fest (2). Shanies et al. 1972 bewiesen für menschliche Fibroblasten unterschiedliche Testosteronmetabolisierung in Abhängigkeit von Geschlecht und Alter (8o). Rivarola et al. 1973 verglich in einer Studie über Testosteronmetabolisierung die Bioconversion von normalen und kryptorchen menschlichen Hoden und stellte unterschiedliche Testosteronmetabolisierung für präpubertäres, pubertäres und adultes Gewebe fest (78). Eine Änderung der Androgensynthese mit zunehmendem Alter zeigten ebenfalls Tanner und Gupta 1968 sowie Gupta et al. 1971 in Langzeitstudien der Androgenausscheidung im Urin an Kindern im Alter von 3 bis 15 Jahren (27, 31, 32, 93).

Nachdem bei künstlich kryptorchen Rattenhoden ebenfalls altersabhängige Veränderungen der Bioconversion festgestellt wurden (14, 49, 71), ist bislang ungeklärt, ob sich beim kryptorchen menschlichen Hoden ebenfalls altersbedingte Änderungen des Substratumsatzes einstellen.

Bei den hier untersuchten Gewebsproben kryptorcher Knaben zwischen dem 2. und 15. Lebensjahr konnte keine Veränderung der Bioconversion mit zunehmendem Alter festgestellt werden.

Dazu muß man sagen, daß die Werte einzelner Individuen gleichen Alters erheblich differierten. Gleiches fanden Gupta et al. 1971 (27, 31, 32). Daraus wären die erheblichen Differenzen einzelner Proben, sowie mangelnde Veränderungen mit zunehmendem Alter zum Teil erklärbar. Eine andere mögliche Ursache für die starken Abweichungen einzelner Proben von einander wäre in den unterschiedlichen Mengen an Hodengewebe pro Inkubation zu suchen (1,4 bis 158,6 mg). Dies ist jedoch nur von untergeordneter Bedeutung, da bereits geringe Mengen von Hodengewebe in der Lage waren, Pregnenolon und Progesteron zu metabolisieren. 75 mg Gewebe bildeten nach zweistündiger Inkubation 34 % Androsteron, 4,4 mg Hodengewebe unter gleichen Bedingungen 31 % Androsteron.

Die Gewinnung normalen menschlichen Hodengewebes stößt verständlicherweise auf Schwierigkeiten. Das im Vergleich zu kryptorchem untersuchte normale Hodengewebe umfaßte nur 4 Proben von Knaben zwischen dem ersten Lebenstag und dem 5. Lebensjahr. Dadurch sind die Vergleichsmöglichkeiten zwischen normalen und kryptorchen menschlichen Hoden sowie Aussagen über altersabhängige Veränderungen der Bioconversion eingeschränkt.

Normales menschliches Hodengewebe zeigte altersabhängige Bioconversion des Substrats. Testosteronwerte nahmen zwischen dem 1. Lebenstag und dem 5. Lebensjahr zu, Androsteronwerte nahmen in der gleichen Zeit ab (Abbildung 21 und Abbildung 22). Kryptorche Proben boten keine altersabhängige Bioconversion, obwohl die Altersspanne der untersuchten Proben weit größer war.

II b. Vergleich der Substratconversion normaler und kryptorcher menschlicher Hoden

Die wesentlichen Unterschiede der Substratconversion zwischen normalen und kryptorchen menschlichen Hoden werden im folgenden besprochen:

1. H3-Progesteronwerte der kryptorchen Gewebsproben waren höher als die der normalen Proben. Alle H3-Progesteronwerte der normalen Hoden lagen unter 5o %, 8 der 1o kryptorchen Hoden, unabhängig vom Alter, hatten Werte zwischen 55 und 76 % (Abbildung 42).

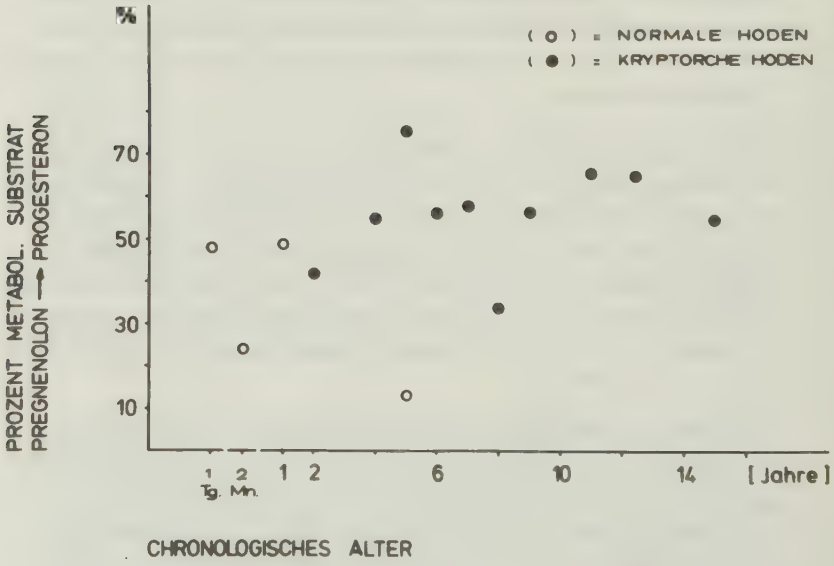


Abbildung 42 : H3-Progesteron

2. Die Summe der 17 -OH-Progesteron- und Androstendion-werte kryptorcher Hoden schien gegenüber den Werten normaler Hoden vermindert. C14-markierte Δ 4-Produkte der kryptorchen Knaben lagen vorwiegend unter 1o %, die der normalen in 3 der 4 Proben zwischen 15 und 29 % (Abbildung 43).

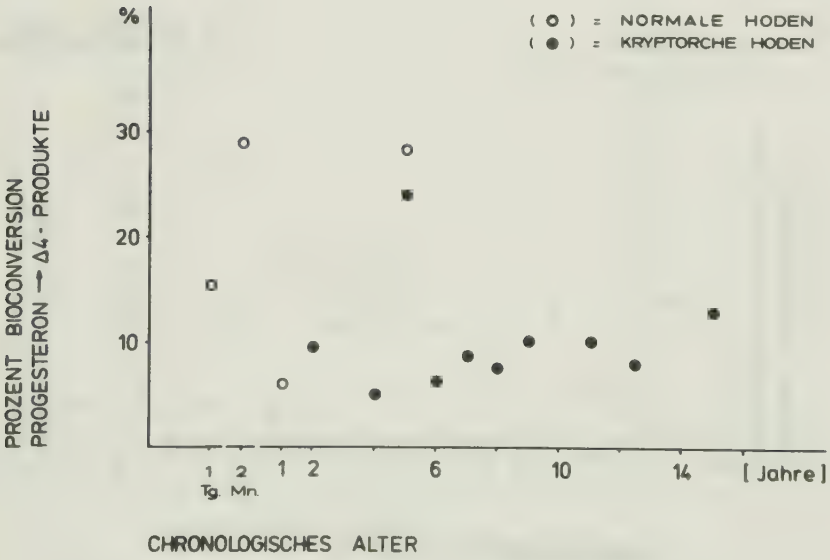


Abbildung 43 : Δ4-Zwischenprodukte der Testosteronsynthese (17-OH-Progesteron + Δ4-Androstendion)

3. Markant war die unterschiedliche Bioconversion zu Testosteron zwischen normalen und kryptorchen menschlichen Hoden. C14-Testosteron fast aller kryptorchen Hoden lag unter 1o %. Die C14-Testosteronwerte der normalen Hoden gleichen Alters zeigten 2 bis 4 fach höhere Werte (Abbildung 44).

H3-Testosteronwerte verhielten sich gleich.

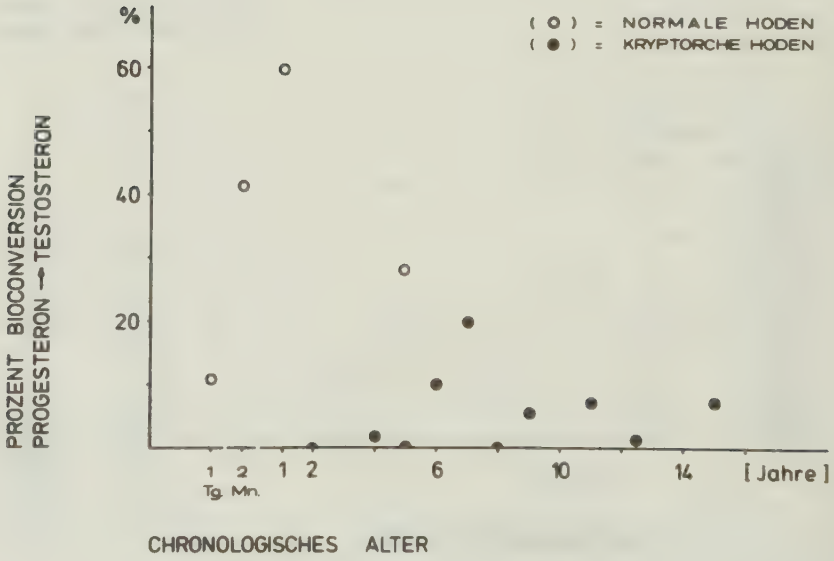


Abbildung 44 : Testosteron

4. Androsteron war bei kryptorchen Hoden in fast allen Fällen Hauptmetabolit des Testosteron, sowohl in H3- als auch in C14-markierter Form. Zweimal war DHT Hauptmetabolit.

   Die entsprechenden Androsteronwerte der normalen Gewebsproben sind, abgesehen von der jüngsten Probe, um das 4 bis 5 fache geringer als die Werte kryptorcher Proben (Abbildung 45).

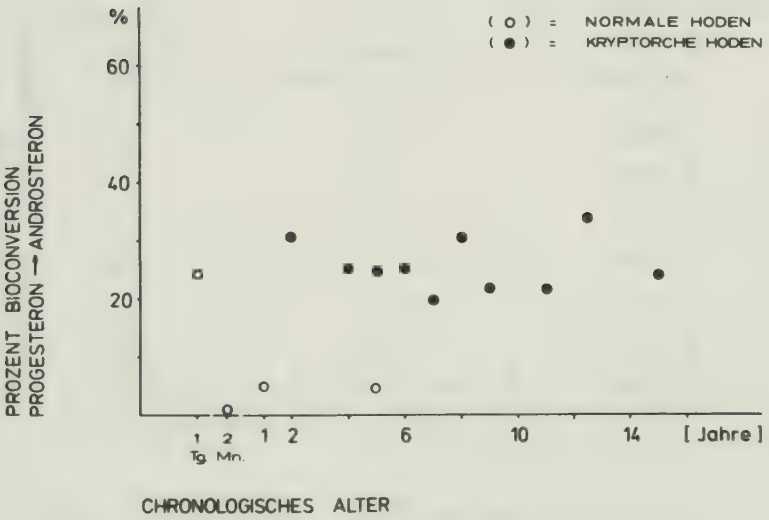


Abbildung 45 : Androsteron

5. Ein Vergleich des Quotienten Androsteron/Testosteron verdeutlicht die unterschiedliche Bioconversion kryptorcher und normaler menschlicher Hoden.

Als Folge der verminderten Testosteronsynthese sowie der vermehrten Androsteronproduktion zeigen die kryptorchen Proben weitaus höhere Quotienten als entsprechendes normales Gewebe (Tabelle 12).

Alter	normale Hoden	kryptorche Hoden
1 Tag	2.29	-
2 Monate	o.o3	-
1 Jahr	o.1o	-
2 Jahre	-	48.64
4 Jahre	-	1o.89
5 Jahre	o.19	38.33
6 Jahre	-	2.57

Tabelle 12 : Das Verhältnis von Androsteron zu Testosteron bei normalen und kryptorchen menschlichen Hoden

6. An der Testosteronmetabolisierung waren bei kryptorchen menschlichen Hoden 17β Hydroxyl-Produkte (DHT, Androstandiol) nur gering beteiligt.

Unterschiede zwischen normalem und kryptorchem Gewebe waren nicht so evident wie bei den 17-Keto-Metaboliten, obwohl normale Hoden zu höheren Werten tendierten als kryptorche (Abbildung 46).

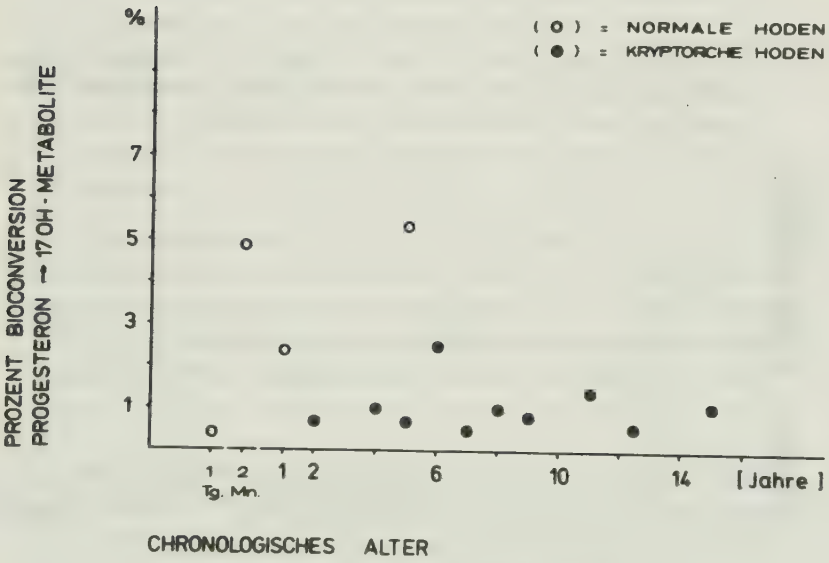


Abbildung 46 : 17β-Hydroxyl-Metabolite
(Dihydrotestosteron + Androstandiol)

7. Shanies et al. berichteten 1972 über eine Veränderung der Relation 17β-Hydroxyl-/17-Keto-Metabolite mit zunehmendem Alter sowie bei testiculärer Feminisierung. Dieses Verhältnis wurde bei normalen und kryptorchen menschlichen Hoden geprüft.

Normalhoden zeigten deutlich höhere Quotienten als kryptorche Hoden, abgesehen von der jüngsten Probe (1 Tag alt). Abbildung 47 zeigt die unterschiedlichen Quotienten für normales und kryptorches Hodengewebe.

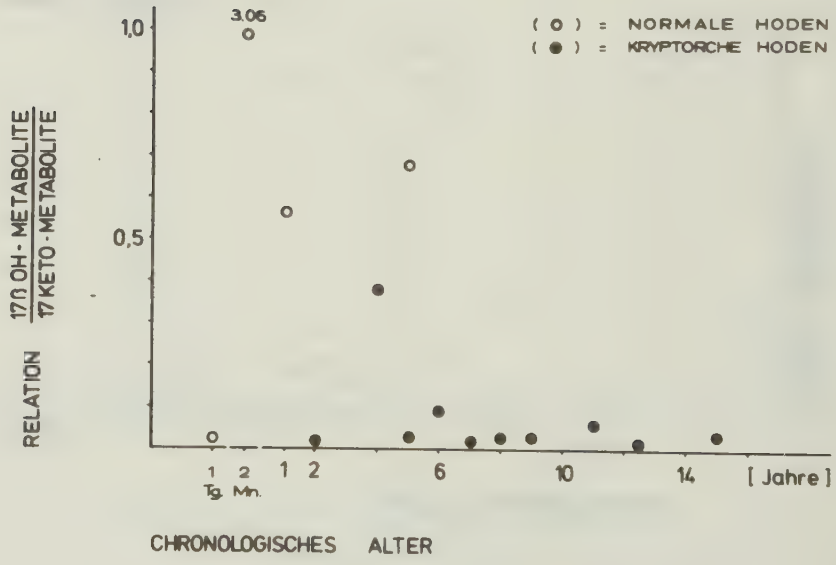


Abbildung 47 : Relation $\frac{17\beta\text{-Hydroxyl-Metabolite}}{17\text{-Keto-Metabolite}}$

Ein Vergleich der Enzymaktivitäten zwischen normalen und kryptorchen menschlichen Hoden, wie sie Inano et al. 1967 an Rattenhoden demonstrierten, brachte deutliche Unterschiede im Enzymmuster (5o).

Abbildung 48 zeigt Unterschiede in der Enzymaktivität zwischen normalen und kryptorchen menschlichen Hoden. Die Aktivität der C17-C2o-Lyase, der 17ß-HSD und der 5α-Reductase sind dargestellt als die Summe der Steroide, die von dem entsprechenden Enzym umgewandelt wurden, ausgedrückt in Prozent. Als 1oo % diente die Summe der Substratmetabolite nach zweistündiger Inkubation. Die errechneten Werte lassen nur dann eine Aussage über die Enzymaktivität zu, wenn die Reaktion unter Substratsättigung erfolgte. Da hier keine getrennten Enzymbestimmungen durchgeführt wurden, sind Angaben über die Aktivität einzelner Enzyme nur möglich, wenn man vorangegangene Reaktionsschritte berücksichtigt.

Die eingezeichneten Werte in Abbildung 48 wurde aus C14-markierten Steroiden berechnet. Kontrollen mit entsprechenden H3-markierten Substanzen brachten gleiche Resultate. Für die kryptorchen Hoden wurden nur altersentsprechende Enzymaktivitäten eingezeichnet obwohl auch ältere Gewebsproben nicht von den eingezeichneten abwichen.

In Übereinstimmung mit Ergebnissen von Axelrod 1965 konnte weder für die Isomerase/3ß-HSD noch für die 17α-Hydroxylase ein Unterschied im Enzymmuster zwischen normalen und kryptorchen Hoden festgestellt werden (2).

Die Aktivität der C17-C2o-Lyase war bei kryptorchen menschlichen Hoden geringer als bei entsprechenden normalen Hoden, da weder die 17α-Hydroxylase noch die Isomerase/3ß-HSD verändert waren (Abbildung 48).

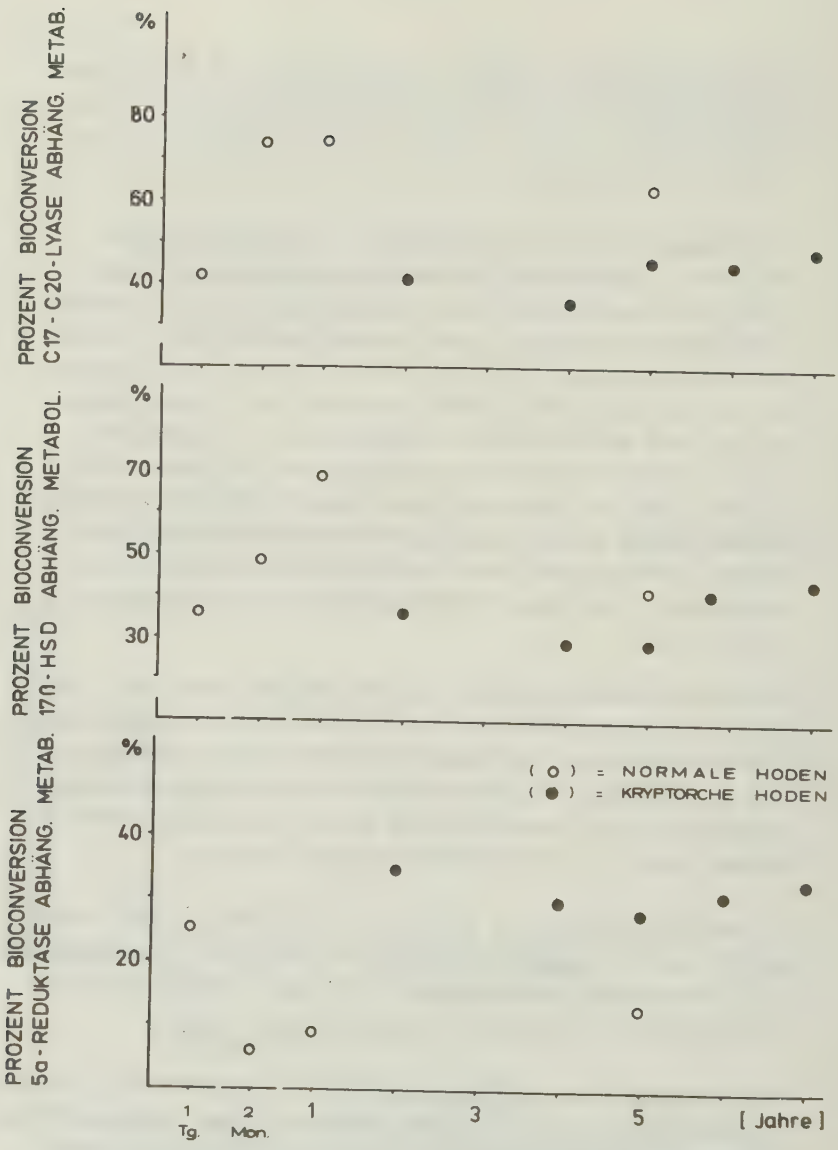


Abbildung 48 : Konzentration C17,2o-Lyase-, 17β-HSD sowie 5α-Reductase abhängiger Metabolite (%)

Die Aktivität der 17β-HSD schien bei kryptorchen Hoden ebenfalls vermindert. Allerdings könnte dies Folge der verminderten C17-C2o-Lyase-Aktivität sein.

Umgekehrt war bei kryptorchen menschlichen Hoden die Aktivität der 5α-Reductase stets höher als bei normalen Hoden, obwohl das Substratangebot für die 5α-Reductase bei kryptorchen Hoden durch verminderte C17-C2o-Lyase-Aktivität reduziert war (Abbildung 48).

In allen Inkubationen menschlichen Hodengewebes fand sich eine stärkere Anhäufung von H3-Progesteron, wie unter Punkt 1 beschrieben. Ebenso wurde C14-Progesteron als Substrat weniger stark umgesetzt als H3-Pregnenolon. Aus Abbildung 48 ist zu ersehen, daß die Menge der von der C17-C2o-Lyase umgesetzten Steroide für kryptorche und normale Hoden unterschiedlich ist. Eine verminderte Aktivität der C17-C2o-Lyase bei kryptorchen menschlichen Hoden würde die höheren Progesteronwerte erklären.

Auf ähnlich hohe Progesteronwerte kamen Yanaihara et al. 1972 bei Inkubationen mit normalem menschlichem Hodengewebe. Ebenfalls fanden sie verminderte 17-OH-Progesteronwerte. Daraus folgerten sie, daß auf dem Δ4-Weg die C17-C2o-Lyase das den Umsatz begrenzende Enzyme darstellt und daß normales menschliches Hodengewebe in vitro den Δ5-Weg bevorzugt (98).

Ob die gefundenen hohen Progesteronwerte durch die Versuchsanordnung bedingt sind oder auch in vivo vorkommen, ist noch offen. Die Lyase-Wirkung ist sehr abhängig von den Cofaktoren NADP und NADPH sowie von molekularem Sauerstoff (59).

Die unter Punkt 2 festgestellten verminderten 17-OH-Progesteron- und Androstendionwerte sowie die unter Punkt 3 verminderte Testosteronsynthese kryptorcher menschlicher Hoden kann man auf eine verminderte Aktivität der C17-C2o-Lyase und eine vermehrte Aktivität der 5α-Reductase (Abbildung 48) zurückführen.

Eine Erhöhung der 5α-Reductase für kryptorche Hoden läßt sich aus der hohen Summe der 5α-reduzierten Substanzen ableiten, zumal das Substratangebot für die 5α-Reductase bei kryptorchen Hoden infolge der herabgesetzten Aktivität der C17-C2o-Lyase eher noch vermindert war. Das würde bedeuten, daß die Bioconversion von Pregnenolon und Progesteron unter Umgehung von Testosteron vermehrt über Androstendion zu 17-Keto-Metabolisierungsprodukten erfolgt.

Ob außer der verminderten Aktivität der C17-C2o-Lyase und der vermehrten 5α-Reductase-Aktivität bei kryptorchen menschlichen Hoden die 17β-HSD beeinflußt ist, kann man ohne nähere enzymatische Bestimmungen nur schwer beurteilen.

Die Summe der von der 17β-HSD umgesetzten Steroide ist für kryptorche kleiner als für normale Hoden (Abbildung 48). Dies mag allein auf die verminderte Aktivität der C17-C2o-Lyase und dem daraus resultierenden verminderten Substratangebot für die 17β-HSD zurückzuführen sein. Andererseits wäre es denkbar, daß eine zusätzliche Hemmung der 17β-HSD die Umgehung der Testosteronsynthese durch Bildung von 17-Keto-Metabolite noch verstärkt.

Die Punkte 3 bis 7 verdeutlichen die unterschiedlichen Bioconversionsmuster kryptorcher und normaler menschlicher Hoden. Verminderte Testosteronwerte (Abbildung 44), erhöhte Androsteronwerte (Abbildung 45) sowie ein Mißverhältnis

zwischen 17β-Hydroxyl- und 17-Keto-Metabolismus (Abbildung 47) gegenüber normalen Hoden sind weitere Anzeichen für eine Umgehung der Testosteronsynthese bei kryptorchen menschlichen Hoden über die Bildung von 17-Keto-Metabolisierungsprodukte.

Shanies et al. berichteten 1972 über altersabhängige Metabolisierung von Testosteron durch menschliche Fibroblasten. Fibroblasten 2 Jahre alter Knaben bevorzugten den 17β-Hydroxylweg, Fibroblasten erwachsener Männer hatten eine verminderte Relation von 17β-Hydroxyl-/17-Keto-Metabolite. Kinder mit testiculärer Feminisierung metabolisierten Testosteron ebenfalls vorwiegend zu 17-Keto-Produkten (80).

Von Rivarola et al. 1973 untersuchte kryptorche menschliche Hoden hatten unabhängig vom Alter eine gegenüber normal verminderte DHT- und Androstandiolproduktion (78). Da 17-Keto-Metabolite nicht untersucht wurden, könnte auch hier eine verminderte Testosteronsynthese durch Bildung von 17-Keto-Metabolite erfolgt sein.

Zusammenfassend kann man sagen:

Die Bioconversion von Pregnenolon und Progesteron durch kryptorches menschliches Hodengewebe in vitro zeichnet sich aus durch verminderte Testosteronwerte bei gleichzeitig erhöhten Androsteronwerten verglichen mit normalem Hodengewebe.

Unabhängig vom Alter der kryptorchen Patienten zeigten sämtliche Gewebsproben dasselbe Bioconversionsmuster.

III. Vergleich der Substratconversion zwischen normalen und kryptorchen Ratten- sowie menschlichen Hoden

In der Bioconversion von Pregnenolon und Progesteron unter in vitro Bedingungen haben Rattenhoden und menschliche Hoden vieles gemeinsam.

In beiden Spezies wird schon im fetalen Hoden Testosteron gebildet. Testosteron sowie dessen Metabolite spielen eine bedeutende Rolle in der Differenzierung des Geschlechtsapparats (5, 6, 86, 89).

Mit Beginn der Pubertät vollziehen sich sowohl im Ratten- als auch im menschlichen Hoden Veränderungen, die zur Entwicklung der Fortpflanzungsfähigkeit und zu vermehrter Androgensynthese führen. Diese anatomischen Veränderungen korrelieren mit entsprechenden Veränderungen der Bioconversion. In den Tubuli wird Testosteron zu 5α-reduzierten Substanzen metabolisiert, gleichzeitig reifen die Zellen der Spermatogenese. Im Interstitium erfolgt vermehrte Synthese von Testosteron parallel mit der Ausdifferenzierung der Leydigzellen (78).

Neben diesen Übereinstimmungen gibt es deutliche Differenzen in der Bioconversion zwischen normalen und kryptorchen Hoden von Ratte und Mensch. Im folgenden werden charakteristische Merkmale der Bioconversion von Pregnenolon und Progesteron durch Hodengewebe beider Spezies nochmals gegenübergestellt.

1. Kryptorche Rattenhoden zeigen eine altersabhängige Testosteronsynthese mit relativ geringen Abweichungen zu Normaltieren. Die Kryptorchismusdauer vermag die Testosteronproduktion nicht wesentlich zu beeinflussen. Alle kryptorchen Tiere zeigen gleiche Reaktion: Abnahme der Testosteronwerte bis etwa zum 3o. Tag nach Beginn des Kryptorchismus, danach höhere Testosteronwerte als normal (Abbildung 49).

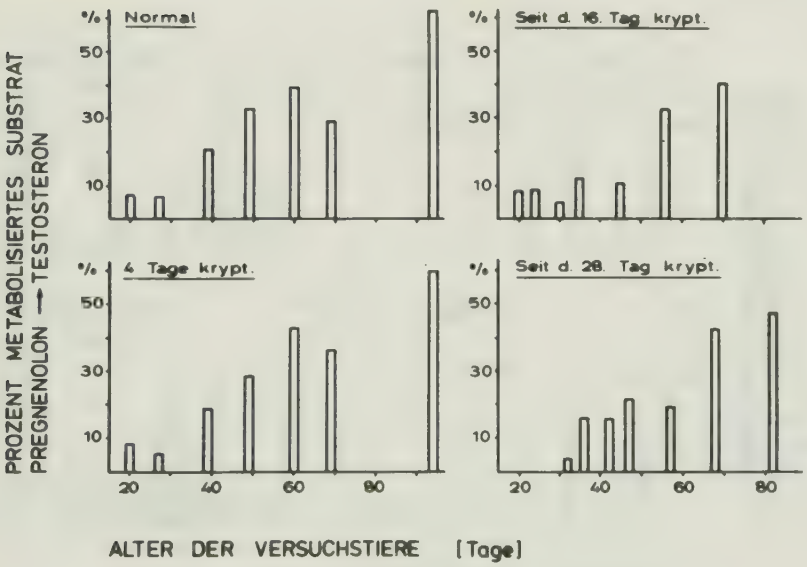


Abbildung 49 : Bioconversion von H3-Pregnenolon zu Testosteron (%) durch Hodengewebe normaler sowie unterschiedlich lang kryptorcher Wistar-Ratten.

2. Künstlich kryptorche Rattenhoden zeigen eine altersabhängige Androstandiolproduktion. Höhere Transformation zu Androstandiol zeigen nur präpubertäre Tiere. Nach dem 35. Lebenstag zeigen alle kryptorchen Tiere deutlich verminderte Androstandiolwerte (Abbildung 5o).

   Auffällig ist ein inverses Verhältnis zwischen Testosteron und Androstandiol.

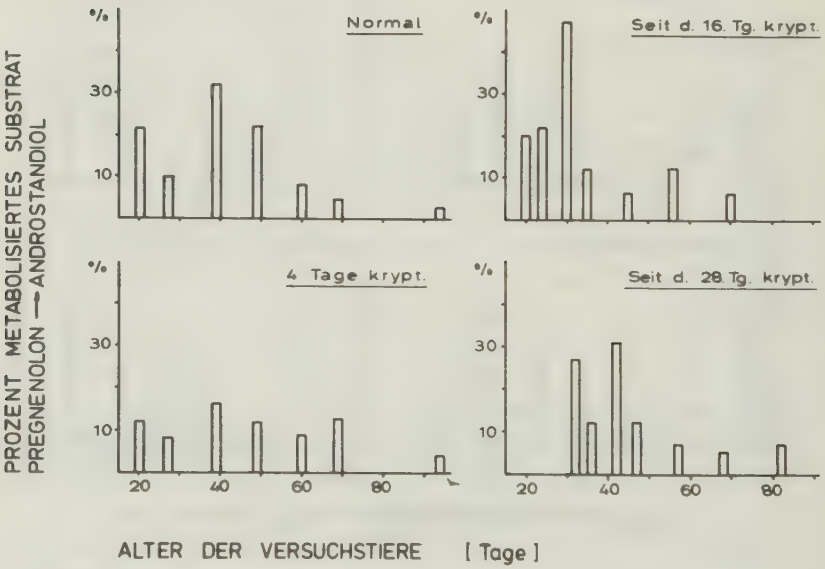


Abbildung 5o : Vergleich der Bioconversion von H3-Pregnenolon zu Androstandiol (%) durch Hodengewebe normaler sowie unterschiedlich lang kryptorcher Wistar-Ratten.

3. Androsteron spielt als Testosteronmetabolit bei kryptorchen Rattenhoden keine wesentliche Rolle. Die Androsteronwerte der kryptorchen Tiere sind unabhängig von Kryptorchismusdauer immer niedriger als die der Normaltiere, wie Abbildung 51 zeigt.

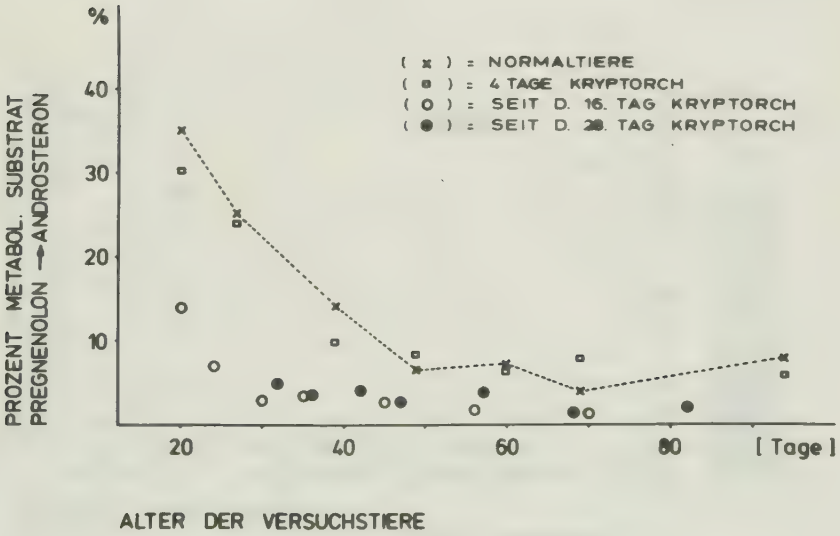


Abbildung 51 : Bioconversion von H3-Pregnenolon zu Androsteron (%) durch Hodengewebe normaler sowie unterschiedlich lang kryptorcher Hoden.

4. Die Testosteronproduktion kryptorcher menschlicher Hoden zeigt keinerlei Altersabhängigkeit. Verglichen mit den Werten normaler Hodeninkubationen, hatte nur der 1 Tag alte Normalhoden ähnlich niedrige Testosteronwerte. Alle übrigen Normalwerte lagen um das 4 - 5fache höher als Testosteronwerte der kryptorchen menschlichen Hoden. Dies trifft sowohl für die Bioconversion von Pregnenolon als auch für die Bioconversion von Progesteron zu Testosteron zu, wie Abbildung 52 verdeutlicht.

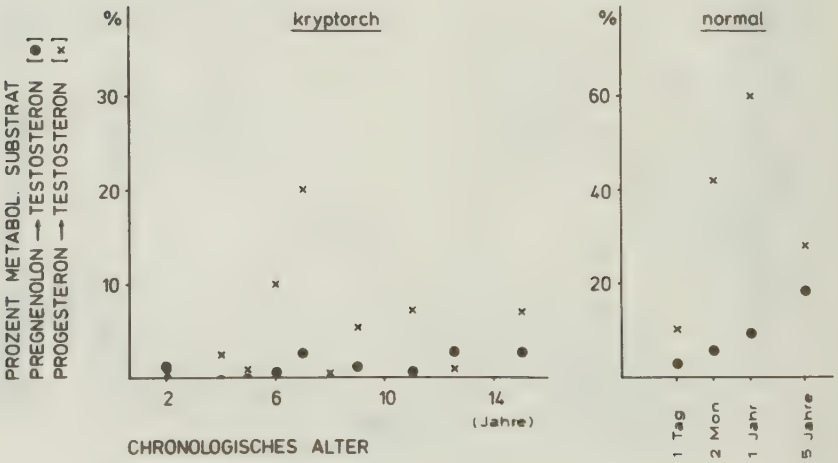


Abbildung 52 : Bioconversion von H3-Pregnenolon und C14-Progesteron zu Testosteron (%) durch gesunde und bilateral kryptorche menschliche Hoden.

5. Kryptorche menschliche Hoden boten nur eine geringe Conversion zu Androstandiol. Bei normalen Hoden war Androstandiol ebenfalls geringer am Testosteronmetabolismus beteiligt als Produkte der 17-Keto-Metabolisierung (Abbildung 53).

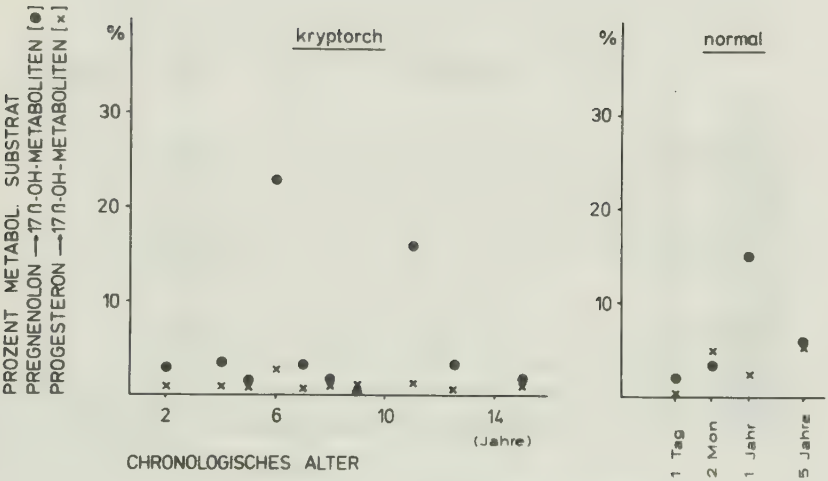


Abbildung 53 : Bioconversion von H3-Pregnenolon und C14-Progesteron zu 17β-OH-Metabolite (in %) durch kryptorche und gesunde menschliche Hoden.

6. Androsteron war bei kryptorchen menschlichen Hoden Hauptmetabolit des Testosteron mit Werten über denen der Normalproben (mit Ausnahme des 1 Tag alten Hodens).

Androsteronwerte der kryptorchen Hoden wiesen im Gegensatz zu normalen Hoden keine erkennbaren Veränderungen in Abhängigkeit vom Alter auf (Abbildung 54).

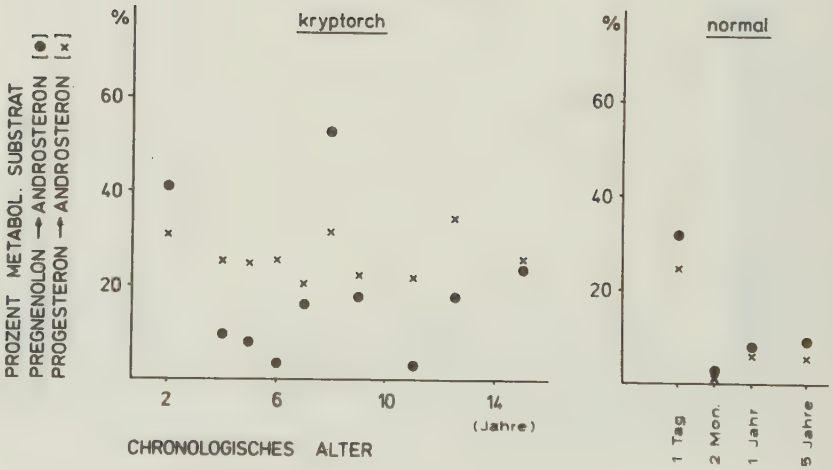


Abbildung 54 : Bioconversion von H3-Pregnenolon und C14-Progesteron zu Androsteron (%) durch bilateral kryptorche und gesunde menschliche Hoden.

7. Altersabhängige Bioconversion zeigten nur normale menschliche Hoden. Kryptorche menschliche Hoden wiesen keinerlei Anzeichen einer veränderten Bioconversion in Abhängigkeit vom Alter auf, wie z. B. künstlich kryptorche Rattenhoden.

Abbildung 55 stellt gegenüber die Bioconversion zu Testosteron und Androstendion sowie die Metabolisierung von Testosteron zu DHT, Androstandiol, Androstandion und Androsteron durch artifiziell kryptorche Rattenhoden in Abhängigkeit vom Alter. Eine Abnahme der 5α-reduzierten Substanzen und gleichzeitig eine Zunahme der Androstendion- und Testosteronwerte mit zunehmender Reife sind deutlich zu erkennen.

Abbildung 56 zeigt die entsprechende Bioconversion für kryptorche menschliche Hoden zwischen dem 2. und 15. Lebensjahr. Da mit Progesteron als Substrat mehr Testosteron gebildet wurde, sind die eingezeichneten Werte Metabolite des Progesteron.

Keine Altersabhängigkeit, sehr hohe Testosteronmetabolite und verminderte Werte für Androstendion und Testosteron sind charakteristisch für die Bioconversion kryptorcher menschlicher Hoden.

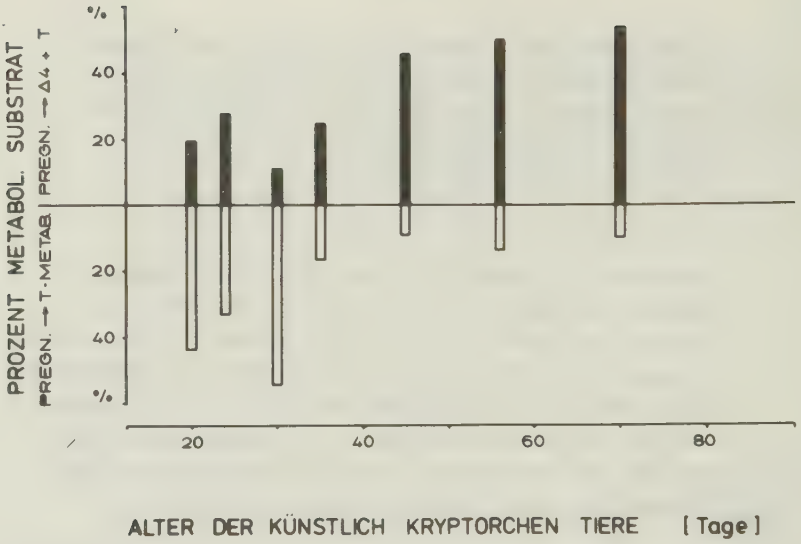


Abbildung 55 : Erläuterungen siehe Text S. 119

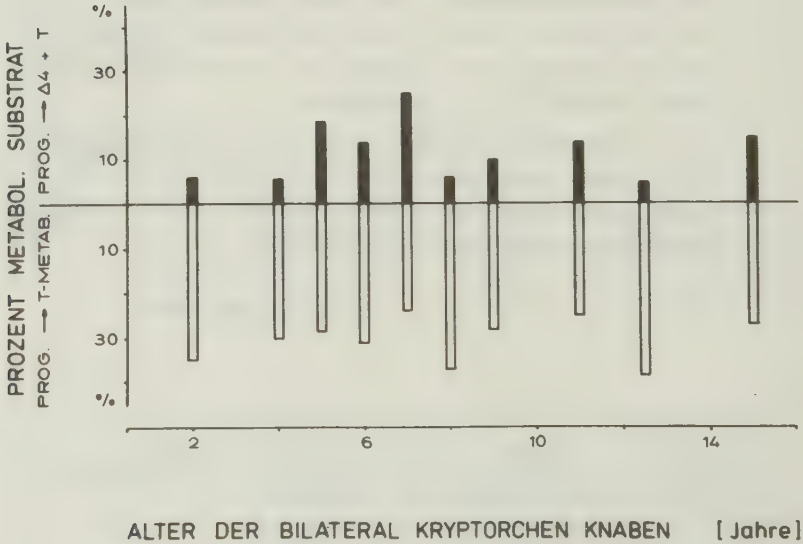


Abbildung 56 : Erläuterungen siehe Text S. 119

Während sowohl normale als auch kryptorche Rattenhoden altersabhängige Substratconversion zeigten, war bei der Inkubation menschlichen Hodengewebes nur im Konversionsmuster normaler Hoden eine Abhängigkeit vom Alter erkennbar.

Die untersuchten kryptorchen menschlichen Hoden boten altersunabhängige Konversionsmuster ohne Tendenz zur Regeneration nach längerer Kryptorchismusdauer, wie z. B. bei artifiziell kryptorchen Rattenhoden. Künstlich kryptorche Rattenhoden reagierten offensichtlich auf die erhöhten Gonadotropinspiegel mit einer Kompensation der vorübergehend gestörten Androgensynthese.

Rager et al. fanden 1975 einen Anstieg des Plasma-Testosteron bei kryptorchen Knaben nach Gabe von HCG. 3o-4o % der kryptorchen Knaben zeigten jedoch einen signifikant verminderten Testosteronanstieg nach HCG, verglichen mit Knaben, bei denen HCG erfolgreich in der Behandlung des Kryptorchismus war (9, 73). Der verminderte Anstieg des Plasma-Testosteron nach HCG-Stimulation stimmt überein mit der hier festgestellten verminderten Biotransformation zu Testosteron im Hoden der kryptorchen Knaben.

Die Tatsache, daß bei 3o-4o % der kryptorchen menschlichen Hoden keine vermehrte Testosteronausschüttung nach Gonadotropingabe erfolgte, sowie die Feststellung, daß die Bioconversion in diesen Hoden keine altersbedingten Veränderungen aufweisen, lassen an einen primären Defekt der kryptorchen menschlichen Hoden denken. Viele der hier besprochenen Resultate weisen auf Defekte der Hodenenzyme bei klinischem Kryptorchismus hin. Durch mangelnde Produktion potenter Androgene, wie Testosteron, DHT oder Androstandiol, wird deren Wirkung auf das Hodengewebe sowie auf sonstige Zielorgane verhindert.

Ob es sich letztendlich um einen Enzymdefekt - wie hier vermutet - oder um eine mangelnde Sensitivität des Hodengewebes auf gonadotrope Reize handelt, bedarf weiterer Abklärung.

Aus dem Besprochenen geht hervor, daß der Rattenhoden als Modell für die normale Bioconversion im menschlichen Hoden brauchbar ist, jedoch versagt, wenn man die Bioconversion kryptorcher Rattenhoden mit denen bilateral kryptorcher menschlicher Hoden vergleicht.

Es ist möglich, daß der Maldeszensus testis beim Menschen Resultat eines primären Defekts des Hodens selbst darstellt und nicht auf einen mechanischen Fehler während des Deszensus zurückzuführen ist. Daher ist der bei Ratten künstlich erzeugte Kryptorchismus durch Verlagern normaler Testes in die Bauchhöhle von einem anderen pathogenetischen Mechanismus begleitet und zeigt deshalb auch andere Bioconversionsmuster sowie die Tendenz zur Kompensation des Defekts nach längerer Kryptorchismusdauer.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Die Testosteronbiosynthese aus Pregnenolon und die Metabolisierung auf dem 17β-Hydroxyl- und dem 17-Keto-Weg durch zerkleinertes Hodengewebe von Menschen und Wistar-Ratten wurden in vitro untersucht.

Dabei wurde einerseits die Substratumwandlung durch prä- und postpubertär kryptorche Rattenhoden in Abhängigkeit vom Alter und von der Kryptorchismusdauer bestimmt und mit Konversionsmuster nicht kryptorcher Rattenhoden verglichen. Zum anderen wurden bei normalen und bilateral kryptorchen menschlichen Hoden ebenfalls die Bioconversion in Abhängigkeit vom Alter und der Effekt des Kryptorchismus auf die Substratumsetzung untersucht.

Die Biotransformation von Pregnenolon durch menschliches Hodengewebe wurde mit den Ergebnissen des Tierversuchs verglichen. Dabei können für die Substratconversion durch Hodengewebe beider Spezies folgende Punkte festgestellt werden:

1. Hodengewebe prä- und postpubertär kryptorcher Ratten zeigt ein altersabhängiges Konversionsmuster. Unreife Tiere beider Gruppen metabolisieren Pregnenolon bevorzugt zu 5α-reduzierten Substanzen (Androstandiol) und zeigen zudem eine höhere Ansammlung von Testosteronvorstufen. Hoden reifer Tiere bilden überwiegend Testosteron, während Testosteronmetabolite nur in geringer Konzentration gefunden wurden.

2. Hauptmetabolisierung des Testosteron erfolgt über den 17β-Hydroxylweg sowohl bei normalen als auch bei kryptorchen Rattenhoden. Androstandiol ist hier Hauptmetabolit. Androstandiol- und Testosteronwerte zeigen während der Reifung der Tiere eine inverse Relation mit anfangs hohen Androstandiol- und niedrigen Testosteronwerten und eine Umkehr der Verhältnisse mit zunehmendem Alter.
Androsteron ist nicht wesentlich an der Metabolisierung des Testosteron im Rattenhoden beteiligt.

3. Bioconversionsmuster kryptorcher Tiere, verglichen mit Normaltieren, zeichnen sich aus durch höhere Androstendionwerte, verminderte Testosteronwerte sowie präpubertär erhöhte Androstandiolwerte. Präpubertär kryptorche Tiere reagieren mit stärkeren Veränderungen der Biotransformation als postpubertär kryptorche Tiere.
Weiteres Merkmal des artifiziellen Kryptorchismus bei Ratten ist die Tendenz zur Regeneration der gestörten Androgensynthese ungefähr 3o Tage nach Beginn des Kryptorchismus.

4. Bei der Substratumwandlung durch menschliches Hodengewebe zeigen nur normale Hoden altersabhängige Konversionsmuster: eine Zunahme der Testosteronwerte bei gleichzeitiger Abnahme der Androsteronwerte zwischen dem 1. Lebenstag und dem 5. Lebensjahr. Kryptorche Hoden bieten keine Anzeichen einer altersbedingten Veränderung der Substratconversion.

5. Hauptmetabolisierungsweg des Testosteron durch kryptorche menschliche Hoden ist der 17-Keto-Weg mit Androsteron als Hauptmetabolit. Dabei wird eine Ver-

lagerung des Metabolismus zugunsten der 17-Keto-Metabolite deutlich. Androstandiol hat nur geringen Anteil an der Testosteronmetabolisierung im kryptorchen menschlichen Hoden.

6. Typische Merkmale der Bioconversion kryptorcher menschlicher Hoden, verglichen mit Normalhoden, sind: höhere Progesteronwerte, verminderte Werte für Testosteronvorläufer, verminderte Testosteronwerte, erhöhte Androsteronwerte sowie ein Mißverhältnis zwischen 17β-Hydroxyl- und 17-Keto-Metaboliten.
Bei kryptorchen menschlichen Hoden sind weder Veränderungen der Bioconversion mit zunehmendem Alter noch Zeichen einer Regeneration der gestörten Steroidsynthese zu erkennen.

G. A N H A N G

Abkürzungen, Trivialnamen und systematische Bezeichnung der untersuchten Steroide und Enzyme:

Androsteron		3α-Hydroxy-5α-androstan-17-on
Androstandiol		5α-Androstan-3α/β,17β-diol
Androstandion		5α-Androstan-3,17-dion
Androstendion		Δ4-Androsten-3,17-dion
Androstendiol		Δ5-Androsten-3β,17β-diol
Cholesterin		Δ5-Cholesten-3β-ol
Dehydroepi-androsteron	(DHA)	3β-Hydroxy-5-androsten-17-on
Dihydro-testosteron	(DHT)	17β-Hydroxy-5α-androstan-3-on
3β- H S D		3β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase
17β- H S D		17β-Hydroxy-Steroiddehydrogenase
Isomerase		Δ5-Δ4-Steroid-Isomerase
17-OH-Pregnenolon		3β,17α-Dihydroxy-5-pregnen-2o-on
17-OH-Progesteron		17α-Hydroxy-4-pregnen-3,2o-dion
Pregnenolon		3β-Hydroxy-5-pregnen-2o-on
Progesteron		Δ4-Pregnen-3,2o-dion
Testosteron		17β-Hydroxy-4-androsten-3-on

H. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1 ANTLIFF, H. R. and W. C. YOUNG: Internal secretory capacity of the abdominal testis in the guinea pig
Endocrinology 61, 121-127 (1957)

2 AXELROD, L. R.: Metabolic patterns of steroid biosynthesis in young and aged human testes
Biochim. Biophys. Acta 97, 551-556 (1965)

3 BAULIEU, E.-E. and P. MAUVAIS-JARVIS: Studies on testosterone metabolism, I. Conversion of testosterone 17α-3H to 5α- and 5β-androstane-3α,17β-diol-17α-3H: A new "17 -hydroxyl pathway"
J. Biol. Chem. 239, 1569-1577 (1964)

4 BEDRAK, E., V. SAMOILOFF and U. A. SOD-MORIAH: Metabolism of 3β-hydroxy-5-ene steroids by testes of rats acclimatized to a hot environment
J. Endocrin. 58, 2o7-216 (1973)

5 BLOCH, E.: Metabolism of 4-14C-progesterone by human fetal testes and ovaries
Endocrinology 74, 833-845 (1964)

6 BLOCH, E.: The conversion of 7-3H-pregnenolone and 4-14C-progesterone to testosterone and androstenedione by mammalian fetal testes in vitro
Steroids 9, 415-43o (1967)

7 BRUCHOVSKY, N. and J. D. WILSON: The conversion of testosterone to 5α-androstan-17β-ol-3-one by rat prostate in vivo and in vitro
J. Biol. Chem. 243, 2o12-2o21 (1968)

8 BUCHER, O.: Cytologie, Histologie and Mikroskopische Anatomie des Menschen
7. Aufl., Bern: Med. Verl. H. Huber 197o

9 BULLE, G., A. ATTANASIO und K. RAGER: Klinische Befunde zur Behandlung des Hodenhochstandes
Mschr. 123, 354-355 (1975)

1o CASTRO, A. E., A. ALONSO and R. E. MANCINI: Localization of follicle-stimulating and luteinizung hormones in the rat testis using immunohistological tests
J. Endocrin. 52, 129-136 (1972)

11 CHOWDHURY, A. K. and E. STEINBERGER: The influence of a cryptorchid milieu on the initiation of spermatogenesis in the rat
J. Reprod. Fert. 29, 173-178 (1972)

12 CHRISTENSEN, A. K. and N. R. MASON: Comparative ability of seminiferous tubules and interstitial tissue of rat testes to synthesize androgens from progesterone-4-14C in vitro
Endocrinology 76, 646-656 (1965)

13 CLEGG, E. J.: Some effects of artificial cryptorchidism on the accessory reproductive organs of the rat
J. Endocrin. 2o, 21o-219 (196o)

14 CLEGG, E. J.: Further studies on artificial cryptorchidism: Quantitative changes in the interstitial cells of the rat testis
J. Endocrin. 21, 433-441 (1961)

15 CLEGG, E. J.: Studies on artificial cryptorchidism: Degenerative and regenerative changes in the germinal epithelium of the rat testis
J. Endocrin. 27, 241-251 (1963)

16 COFFEY, J. C., F. S. FRENCH and S. N. NAYFEH: Metabolism of progesterone by rat testicular homogenates. IV. Further studies of testosterone formation in immature testis in vitro
Endocrinology 89, 865-872 (1971)

17 DAVIS, J. R. and C. F. FIRLIT: The germinal epithelium of cryptorchid testes experimentally induced in prepubertal and adult rats
Fertil. Steril. 17, 187-2oo (1966)

18 DORFMAN, R. I., E. FORCHIELLI and M. GUT: Androgen-biosynthesis and related studies
Recent Progr. Hormone Res. 65o, 251-265 (1963)

19 EICHNER, M., K. RAGER, A. ATTANASIO and D. GUPTA: Effect of bilateral cryptorchidism upon pituitary and serum levels of LH and FSH in sexually maturing male rats
Acta endocr. (Kbh) Suppl. 193, 87 (1975)

2o EICHNER, M., K. RAGER and D. GUPTA: Concentration of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in pituitary and serum of male rats and the influence of luteinizing hormone releasing in relation to sexual maturation
J. Endocrin. 65, 7-8 (1975)

21 EIK-NES, K. B. and M. KEKRE: Metabolism in vivo of steroids by the canine testis
Biochim. Biophys. Acta 78, 449-456 (1963)

22 EL SAFOURY, S. and A. BARTKE: Effects of follicle-stimulating hormone and luteinzing hormone on plasma testosterone levels in hypophysectomized and in intact immature and adult male rats
J. Endocrin. 61, 193-198 (1974)

23 FICHER, M. and E. STEINBERGER: Conversion of progesterone to androsterone by testicular tissue at different stages of maturation
Steroids 12, 491-506 (1968)

24 FICHER, M. and E. STEINBERGER: In vitro progesterone metabolism by rat testicular tissue at different stages of development
Acta Endocr. 68, 285-292 (1971)

25 FOLMAN, Y., J. G. SOWELL and K. B. EIK-NES: The presence and formation af 5α-dihydrotestosterone in rat testes in vivo and in vitro
Endocrinology 91, 702-710 (1972)

26 FOLMAN, Y., N. AHMAD, J. G. SOWELL and K. B. EIK-NES: Formation in vitro of 5α-dihydrotestosterone and other 5α-reduced metabolites of 3H-testosterone by the seminiferous tubules and interstitial tissue from immature and mature rat testes
Endocrinology 92, 41-47 (1973)

27 GUPTA, D.: A longitudinal study of steroid excretion patterns in children during adolescent growth
Steroidologia 1, 267-294 (1970)

28 GUPTA, D.: Inhärente Tendenz zur Weiblichkeit: Hormone und die Kontrolle der männlichen Sexualfunktion
Sexualmedizin 3, 68-74 (1974)

29 GUPTA, D.: Gonadal steroids and gonadotrophin feedback regulation of mammalian sexual maturation
Recent Progr. Reprod. Endocrin., Eds. P. G. Crossignani and V. H. T. James, London: Academic Press 1974

30 GUPTA, D.: Changes in the gonadal and adrenal steroid patterns during puberty
Clin. Endocrin. Metabol. 4, 27-65 (1975)

31 GUPTA, D. and H. BUTLER: Excretion of testosterone and epitestosterone glucuronides in pre-school, pre-adolescent and adolescent children
Steroids 14, 343-353 (1969)

32 GUPTA, D. and W. A. MARSHALL: A longitudinal study of the urinary excretion of individual steroids in children from 3 to 7 years old
Acta endocr. 68, 141-163 (1971)

33 GUPTA, D., A. ATTANASIO and S. RAAF: Plasma estrogen and androgen concentrations in children during adolescence
J. Clin. Endocr. Met. 40, 636-643 (1975)

34 GUPTA, D., E. McCAFFERTY and K. RAGER: Plasma 5α-dihydrotestosterone (17β-hydroxy-5α-androstan-3-one) in adolescent males at different stages of sexual maturation
Steroids 19, 411-431 (1972)

35 GUPTA, D., K. RAGER and M. EICHNER: Age-dependent changes in the synthesis and release of pituitary gonadotrophins in the male rat following LHRH and cryptorchidism
Ped. Res. 9, 670 (1975)

36 GUPTA, D., J. ZARZYCKI and K. RAGER: Plasma testosterone in male rats during sexual maturation and following orchidectomy and experimental bilateral cryptorchidism
Steroids 25, 33-42 (1975)

37 GUPTA, D., K. RAGER, A. ATTANASIO and W. KLEMM: Sex steroid hormones during multiphase pubertal development
J. Steroid. Biochem. 6, 859-868 (1975)

38 GUPTA, D., K. RAGER, G. PFISTER and W. VOGT: Bioconversion of the androgen precursors by pre- and postpubertal rat testes with special reference to local irradiation and gonadotrophin stimulation
Steroids 21, 17-2o (1973)

39 GUPTA, D., K. RAGER, J. ZARZYCKI and M. EICHNER: Levels of lutenizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone and dihydrotestosterone in the circulation of sexually maturing intact male rats and after orchidectomy and experimental bilateral cryptorchidism
J. Endocrin. 66, 183-193 (1975)

4o GUPTA, D., K. RAGER, K. ZECH and W. VOELTER: Hypothalamic-pituitary-testicular feedback mechanism during mammalian sexual maturation: Hypothalamic hormones - structure, synthesis and biological activity
Eds. D. Gupta, W. Voelter, s. 859-868, Weinheim: Verlag Chemie 1975

42 GUPTA, D., K. RAGER, M. EICHNER, K. ZECH, S. FUCHS and W. VOELTER: Pituitary gonadotrophins and androgen release induced by a synthetic tetrapeptide in male prepubertal and adult rats
J. Endocrin. 64, 391-392 (1975)

42 HAGEN, A. A. and K. B. EIK-NES: Conversion of 17α-hydroxypregnenolone to 17α-hydroxyprogesterone by the canine testis in vivo
Biochim. Biophys. Acta 86, 372-379 (1964)

43 HAGEN, A. A. and K. B. EIK-NES: Testosterone biosynthesis in the canine in vivo following infusion of 17α-hydroxy(4-14C)progesterone and (7α-3H)dehydroepiandrosterone via the spermatic artery
Biochim. Biophys. Acta 90, 593-599 (1964)

44 HALL, P. F.: The effect of interstitial-cell-stimulating hormone on the biosynthesis of testicular cholesterol form acetate-1-C14
Biochem. 2, 1232-1237 (1963)

45 HALL, P. F.: On the stimulation of testicular steroidogenesis in the rabbit by interstitial-cell-stimulating hormone
Endocrinology 78, 690-698 (1966)

46 HALL, P. F., D. C. IRBY and D. M. DE KRETSER: Conversion of cholesterol to androgens by rat testes: Comparison of interstitial cells and seminiferous tubules
Endocrinology 84, 488-496 (1969)

47 HALL, P. F., C. C. SOZER and K. B. EIK-NES: Formation of dehydroepiandrosterone during in vivo and in vitro biosynthesis of testosterone by testicular tissue
Endocrinology 74, 35-43 (1964)

48 INANO, H. and B.-I. TAMAOKI: Bioconversion of steroids in immature rat testes in vitro
Endocrinology 79, 579-590 (1966)

49 INANO, H. and B.-I. TAMAOKI: Effect of experimental bilateral cryptorchidism on testicular enzymes related to androgen formation
Endocrinology 83, 1074-1082 (1968)

50 INANO, H., Y. HORI and B.-I. TAMAOKI: Effect of age on testicular enzymes related to steroid bioconversion
Coll. Endocr. 16, 105-119 (1967)

51 INANO, H., H. NAKANO, M. SHIKITA and B.-I. TAMAOKI: The influence of various factors upon testicular enzymes related to steroidogenesis
Biochim. Biophys. Acta 137, 540-548 (1967)

52 JENDRICKE, K., K. RAGER und E. SCHÄFER: Vorläufige Ergebnisse klinischer, biochemischer und anatomischer Untersuchungen bei Maldescensus testis
Mschr. Kinderheilk. 121, 634-635 (1973)

53 KAARTINEN, E., M. LAUKKANEN and A. SAURE: Metabolism of dehydroepiandrosterone by rat testicular homogenates: Kinetic study at different temperatures: Direct effect of 17β-oestradiol
Acta endocr. 66, 50-64 (1971)

54 KAHNT, F. W., K. SCHMID und A. WETTSTEIN: Bildung von 17α-Hydroxy-delta 5-pregnenolon und 3β-Hydroxy-17 keto-delta 5-androsten (DHA) in Nebennieren- und Testes-Gewebe
Experientia 17, 19-21 (1961)

55 KORMANO, M., M. HÄRKÖNEN and E. KONTINEN: Effect of experimental cryptorchidism on the histochemically demonstrable dehydrogenases of the rat testis
Endocrinology 74, 44-51 (1964)

56 LANGMAN, J.: Medizinische Embryologie
2. Aufl. Stuttgart: Thieme 197o

57 LINDNER, H. R. and T. MANN: Relationship between the content of androgenic steroids in the testes an the secretory activity of the seminal vesicles in the bull
J. Endocrin. 21, 341-36o (196o)

58 LLOYD, B. J.: Plasma testosterone and accessory sex glands in normal and cryptorchid rats
J. Endocrin. 54, 285-296 (1972)

59 LYNN, W. S. and R. H. BROWN: The conversion of progesterone to androgens by testes
J. Biol. Chem. 232, 1o15-1o3o (1958)

6o MAINWARING, W. I. P. and F. R. MANGAN: A study of the androgen receptors in a variety of androgen-sensitive tissues
J. Endocrin. 59, 121-139 (1973)

61 MOORE, C. R.: Hormone secretion by experimental cryptorchid testes
Yale J. Biol. Med. 17, 2o3-216 (1945)

62 MORRIS, M. D. and I. L. CHAIKOFF: The origin of cholesterol in lever, small intestine, adrenal gland, and testis of the rat: Dietary versus endogenous contributions
J. Biol. Chem. 234, 1o95-1o97 (1959)

63 MUROTA, S.-I., M. SHIKITA and B.-I. TAMAOKI: Intracellular distribution of the enzymes related to androgen formation in mouse testes
Steroids 5, 4o9-413 (1965)

64 NAFTOLIN, F. and H. H. FEDER: Suppression of luteinizing hormone secretion in male rats by 5α-androstan-17β-ol-3-one (dihydrotestosterone) propionate
J. Endocrin. 56 155-156 (1973)

65 NAYFEH, S. N. and B. BAGGETT: Metabolism of progesterone by rat testicular homogenates: I. Isolation and identification of metabolites
Endocrinology 78, 46o-47o (1966)

66 NAYFEH, S. N., S. W. BAREFOOT and B. BAGGETT: Metabolism of progesterone by rat testicular homogenates: II. Changes with age
Endocrinology 78, 1o41-1o48 (1966)

67 NEHER, R. and A. WETTSTEIN: Occurrence of Δ5-3β-hydroxysteroids in adrenal and testicular tissue
Acta endocr. 35, 1-7 (196o)

68 NOUMURA, T., J. WEISZ and C. W. LLOYD: In vitro conversion of 7-3H-progesterone to androgens by the rat testis during the second half of fetal life
Endocrinology 78, 245-253 (1966)

69 NÜBEL, B.: In vitro Biokonversion von Pregnenolon bei normalen und artifiziell kurzzeitig kryptorchen Ratten während der Reifeperiode
Diss. Med., Tübingen: 1977

7o OSHIMA, H., T. SARADA and K. OCHIAI: Delta 4-5α-hydrogenase in immature rat testes: its intracellular distribution, enzyme kinetics, and influence of administered gonadotrophin and testosterone propionate
Endocrinology 86, 1215-1224 (197o)

71 RAGER, K., E. ARNOLD, H. JAUCH and D. GUPTA: Effect of age on steroidogenesis in experimental bilateral cryptorchid rats
J. Endocrin. 63, 16-17 (1974)

72 RAGER, K., M. EICHNER, W. WILLMANN and D. GUPTA: Studies on the relative sensitivity for androgen feedback inhibition in rats during sexual maturation
Ped. Res. 9, 687 (1975)

73 RAGER, K., J. ZARZYCKI, M. EICHNER and D. GUPTA: Effects of experimental bilateral cryptorchidism and castration on the plasma gonadotrophins in male rats during sexual maturation
Res. Exp. Med. 165, 55-59 (1975)

74 RICHARDS, G. and A. M. NEVILLE: Conversion of (4-14C) 5α-pregnane-3,2o-dione to 5α-C19-steroids by the prepubertal rat testis
J. Endocrin. 59, 185-186 (1973)

75 RICHARDS. G. and A. M. NEVILLE: Metabolism of (7a-3H) dehydroepiandrosterone and (4-14C) androstenedione in vitro by testicular tissue from adult and prepubertal wistar rats
J. Endocrin. 63, 149-155 (1974)

76 RIVAROLA, M. A. and E. J. PODESTA: Metabolism of testosterone-14C by seminiferous tubules of mature rats: Formation of 5α-androstan-3α,17β-diol-14C
Endocrinology 9o, 618-623 (1972)

77 RIVAROLA, M. A., E. J. PODESTA and H. E. CHEMES: In vitro testosterone-14C metabolism by rat seminiferous tubules at different stages of development: Formation of 5α-androstandiol at meiosis
Endocrinology 91, 537-542 (1972)

78 RIVAROLA, M. A., E. J. PODESTA, H. E. CHEMES and D. AGUILAR: In vitro metabolism of testosterone by whole human testis, isolated seminiferous tubules and interstitial tissue
J. Clin. Endocr. Met. 37, 454-460 (1973)

79 ROBEL, P.: Steroid hormone metabolism in responsive tissues in vitro
Acta endocr. 153, 279-291 (1971)

80 SHANIES, D. D., K. HIRSCHHORN and M. I. NEW: Metabolism of testosterone-14C by cultured human cells
J. Clin. Invest. 51, 1459-1467 (1972)

81 SHIKITA, M. and P. F. HALL: The action of human chorionic gonadotrophin in vivo upon microsomal enzymes of immature rat testis
Biochim. Biophys. Acta 136, 484-497 (1967)

82 SHIKITA, M. and B.-I. TAMAOKI: Testosterone formation by subcellular particles of rat testes
Endocrinology 76, 563-569 (1965)

83 SHIKITA, M. and B.-I. TAMAOKI: 20α-hydroxysteroid dehydrogenase of testes
Biochemistry 4, 1189-1195 (1965)

84 SHIKITA, M., H. INANO and B.-I. TAMAOKI: Further studies on 20α-hydroxysteroid dehydrogenase of rat testes
Biochemistry 6, 1760-1764 (1967)

85 SHIKITA, M., H. KAKIZAKI and B.-I. TAMAOKI: The pathway of formation of testosterone from 3β-hydroxypregn-5-en-20-one by rat testicular microsomes
Steroids 4, 521-531 (1964)

86 SIITERY, K. and J. D. WILSON: Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo
J. Clin. Endocr. Metab. 38, 113-125 (1974)

87 SLAUNWHITE, W. R. and M. J. BURGETT: In vitro testosterone synthesis by rat testicular tissue
Steroids 6, 721-735 (1965)

88 SLAUNWHITE, W. R. and L. T. SAMUELS: Progesterone as a precursor of testicular androgens
J. Biol. Chem. 22o, 341-353 (1956)

89 STEINBERGER, E. and M. FICHER: Conversion of progesterone to testosterone by testicular tissue at different stages of maturation
Steroids 11, 351-367 (1968)

9o STEINBERGER, E. and M. FICHER: Formation and metabolism of testosterone in testicular tissue of immature rats
Endocrinology 89, 679-684 (1971)

91 STYLIANOU, M., E. FORCHIELLI and R. I. DORFMAN: The metabolism of 4-C14-testosterone in rat testis homogenate
J. Biol. Chem. 236, 1318-132o (1961)

92 TAMAOKI, B.-I. and N. SHIKITA: A dynamic study on the pathway of testosterone formation from progesterone and pregnenolone by rat testicular microsomes
Europ. J. Ster. 1, 351-359 (1966)

93 TANNER, J. M. and D. GUPTA: A longitudinal study of the urinary excretion of individual steroids in children from 8 to 12 years old
J. Endocrin. 41, 139-156 (1968)

94 THOMAS, P. J.: Steroid hormones and their receptors
J. Endocrin. 57, 333-359 (1973)

95 TOREN, D., K. M. J. MENON, E. FORCHIELLI and R. I. DORFMAN: In vitro enzymatic cleavage of the cholesterol side chain in rat testis preparations
Steroids 3, 381-390 (1964)

96 WATTENBERG, L. W.: Microscopic histochemical demonstration of steroid-3β-ol dehydrogenase in tissue sections
J. Histochem. Cytochem. 6, 225-232 (1958)

97 YAMADA, M., S. YASUE and K. MATSUMOTO: Formation of 5α-reduced products from testosterone in vitro by germ cells from immature rats
Acta endocr. 71, 393-408 (1972)

98 YANAIHARA, T. and P. TROEN: Studies of the human testis: I. Biosynthetic pathways for androgen formation in human testicular tissue in vitro
J. Clin. Endocr. Met. 34, 783-792 (1972)

99 ZANISI, M., M. MOTTA and L. MARTINI: Inhibitory effect of 5α-reduced metabolites of testosterone on gonadotrophin secretion
J. Endocrin. 56, 315-316 (1973)

D a n k s a g u n g

Herrn Prof. Dr. J. R. Bierich danke ich für die Möglichkeit, in der Kinderklinik zu arbeiten und für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes.

Herrn Prof. Dr. D. Gupta möchte ich besonders danken für die Überlassung des Themas und für viele Hinweise zur Methode und Durchführung dieser Arbeit.

Besonders zu Dank verpflichtet bin ich Herrn Oberarzt Dr. K. Rager, der sich für ausführliche Diskussionen und viele hilfreiche Anregungen stets Zeit nahm.

Ich danke Herrn Prof. Dr. A. Flach von der Kinderchirurgischen Abteilung der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen für die menschlichen Gewebsproben sowie Herrn Dr. G. Brügmann für die Computerprogramme zur Berechnung der Ergebnisse.

Meinen Kommilitonen E. Arnold und A. Hauschild verdanke ich die Einführung in die Arbeitsmethode, M. Eichner stellte die FSH- und LH-Serumwerte normaler und kryptorcher Ratten zur Verfügung. Last not least kam diese Arbeit dank vieler fruchtbarer Diskussionen mit meinem Studienkollegen B. Nübel zustande, von dem ebenfalls die in der Diskussion verwendeten Werte für Normaltiere stammen.

LEBENSLAUF

Am 23. November 1948 wurde ich, Stefan Grumbach, als Sohn des Andreas Grumbach und dessen Ehefrau Christina, geborene Schleicher, in Kraatz geboren. 1954 übersiedelten wir in die Bundesrepublik, wo ich bis zum Januar 1957 in Oberjesingen die Volksschule besuchte. Die folgenden vier Jahre verbrachte ich in den Vereinigten Staaten, wo ich in Medina, Ohio, zur Schule ging. Nach unserer Rückkehr besuchte ich bis zum 23. März 1963 erneut die Volksschule in Oberjesingen.

Nach Abschluß der dreijährigen Höheren Handelsschule in Böblingen am 22. März 1966 besuchte ich das Wirtschaftsgymnasium in Stuttgart und bestand dort am 20. Juni 1968 die Reifeprüfung.

Im Anschluß an ein achtwöchiges Krankenpflegepraktikum im Kreiskrankenhaus Herrenberg wurde ich am 1. Juli 1969 bis zum 31. Dezember 1970 zum Wehrdienst einberufen.

Am 6. April 1971 nahm ich an der Universität Hohenheim das Medizinstudium auf. Nach bestandenem Vorphysikum im Frühjahr 1972 setzte ich mein Studium in Tübingen fort. Hier legte ich am 21. September 1973 die ärztliche Vorprüfung ab. Mit dem medizinischen Staatsexamen beendete ich am 21. Dezember 1976 mein Studium.

city schnelldruck, marcusstraße 10, 8700 würzburg